

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIA TEADUSKOND

Keemia Instituut

Mihkel Ilisson

UUDSETE SAHHARIIDI HÜDRASOONIDE SÜNTEES

Magistritöö (30 EAP)

Juhendaja: dots. Uno Mäeorg

Tartu 2014

SISUKORD

KASUTATUD LÜHENDID	4
SISSEJUHATUS	6
KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	7
<i>N,N</i> -dialküülhüdrasoonid - süntees ja keemilised omadused	7
Hüdrasoonide süntees	7
Hüdrasoonide keemilised omadused	8
SAMP/RAMP hüdrasoonid	9
Sahhariidide hüdrasoonid	11
<i>N</i> -amino-pürrolidiini, -piperidiini ja -asepaani süntees	13
EKSPERIMENTAALNE OSA	16
Aparatuur ja töövahendid	16
Kasutatud reagentide ja lahustite füüsikalised konstandid	17
<i>N</i> -aminopürrolidiini süntees	18
<i>N</i> -aminopiperidiini süntees.....	19
<i>N</i> -aminoasepaani süntees.....	21
L-arabinoosi <i>N</i> -aminopürrolidiini hüdrasooni süntees	23
L-arabinoosi <i>N</i> -aminopiperidiini hüdrasooni süntees.....	24
L-arabinoosi <i>N</i> -aminoasepaani hüdrasooni süntees	25
D-galaktoosi <i>N</i> -aminopürrolidiini hüdrasooni süntees.....	26
D-galaktoosi <i>N</i> -aminopiperidiini hüdrasooni süntees	27
D-galaktoosi <i>N</i> -aminoasepaani hüdrasooni süntees	28
D-mannoosi <i>N</i> -aminopürrolidiini hüdrasooni süntees.....	29
D-mannoosi <i>N</i> -aminopiperidiini hüdrasooni süntees	30
D-mannoosi <i>N</i> -aminoasepaani hüdrasooni süntees	31
D-riboosi <i>N</i> -aminopürrolidiini hüdrasooni süntees	32
D-riboosi <i>N</i> -aminopiperidiini hüdrasooni süntees.....	33

D-riboosi <i>N</i> -aminoasepaani hüdrasooni süntees.....	34
L-ramnoosi <i>N</i> -aminopürrolidiini hüdrasooni süntees.....	35
L-ramnoosi <i>N</i> -aminopiperidiini hüdrasooni süntees	36
L-ramnoosi <i>N</i> -aminoasepaani hüdrasooni süntees	37
2-deoksü-D-riboosi <i>N</i> -aminopürrolidiini hüdrasooni süntees	38
2-deoksü-D-riboosi <i>N</i> -aminopiperidiini hüdrasooni süntees.....	39
2-deoksü-D-riboosi <i>N</i> -aminoasepaani hüdrasooni süntees.....	40
TULEMUSED JA ARUTELU	41
Heterotsükliliste hüdrasiinide süntees	41
<i>N</i> -aminopürrolidiini sünteesi optimeerimine.....	41
<i>N</i> -aminopiperidiini sünteesi optimeerimine	41
<i>N</i> -aminoasepaani sünteesi optimeerimine	42
Sahhariidi hüdrasoonide süntees	43
Sahhariidi hüdrasoonide bioloogilise aktiivsuse uurimine.....	44
KOKKUVÕTE	46
KASUTATUD KIRJANDUS	47
SUMMARY	50
TÄNUAVALDUSED.....	51
LISAD	52

KASUTATUD LÜHENDID

ATR – nõrgestatud sisepeegeldus (*attenuated total reflectance*)

Boc – *tert*-butüüloksükarbonüül

DCM – diklorometaan

DMPU – *N,N'*-dimetüülpropüleenuurea

DMSO – dimetüülsulfoksiid

DNA – desoksüribonukleiinhape

EDX – energiadiispersiivne röntgenkiirguse detektor

ESI – elektropihustusionisatsioon

EWG – elektroaktseptoorne rühm (*electron-withdrawing group*)

FTIR – Fourier' teisendusega infrapunaspektromeeter

HAV – A-hepatiidi viirus

HIV – inimese immuunpuudulikkuse viirus

HMPA – heksametüülfosfortriamiid

HRMS – kõrglahutus-massispektromeetria

HSV – *herpes simplex* viirus

IC₅₀ – 50% maksimaalsest inhibeerimiskontsentratsioonist

KDA – kaaliumdiisopropüülamiid

LDA – liitiumdiisopropüülamiid

LTMP – liitium-2,2,6,6-tetrametüülpiperidiin

MCPBA – meta-kloroperoksübensoehape

MTBE – metüül-*tert*-butüüleeter

NDA – naatriumdiisopropüülamiid

RAMP – 1-amino-2-*R*-metoksümetüülpürrolidiin

RNA – ribonukleiinhape

SAMP – 1-amino-2-*S*-metoksümetüülpürrolidiin

SEM – skaneeriv elektronmikroskoop

TEA – trietüülamiin

TFA – trifluoroetaanhape

TLC – planaarkromatograafia (*thin layer chromatography*)

TMR – tuumamagnetresonantsspektroskoopia

TMS – trimetüülsilüül

VLP – viiruslaadne osake (*virus-like particle*)

SISSEJUHATUS

Sahhariidid on levinuimad biomolekulid Maal [1]. Nad on organismide üheks põhiliseks koostisosaks lisaks valkudele ja lipiididele. Mono- ja polüsahhariidid osalevad mitmetes arenenumate organismide metabolismiradades ning samuti kuuluvad nad tähtsate makromolekulide RNA ja DNA koosseisu.

Hüdrasoonideks nimetatakse keemilisi ühendeid, mis tekivad hüdrasiinide ja karbonüülühendite kondensatsioonireaktsiooni tulemusel. Neid võib ka vaadelda kui imiinide analooge. Hüdrasoonide sünteetiline tähtsus põhineb eelkõige nende α -prootonite madalamal happelisusel, tänu millele on hüdrasoonidega võimalik läbi viia mitmeid reaktsioone selektiivsemalt kui vastavate karbonüülühenditega [2].

Sahhariidide hüdrasoonid, mis sisaldavad heterotsükli, on oma olemuselt C-nukleosiidide atsükliilised analoogid – ühendid, mis on üles näidanud aktiivsust nii bakterite, viiruste, seente kui ka vähirakkude vastu. Erilist huvi pakuvad just hüdrasino-fragmenti sisaldavad C-nukleosiidide analoogid nende modifitseeritud struktuuri ja elektrostaatiliste omaduste tõttu [3-7].

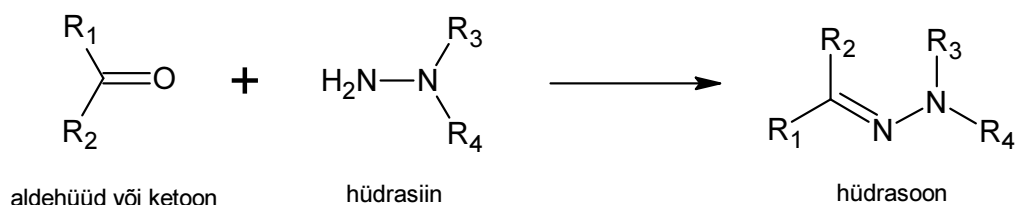
Käesoleva uurimistöö eesmärgid võib jagada kaheks. Esimeses etapis sooviti otsida võimalusi heterotsükliiliste hüdrasiinide (*N*-aminopürrolidiini, *N*-aminopiperidiini, ja *N*-aminoasepaani) sünteesiks ning vajadusel neid optimeerida. Teise etapi eesmärk oli sünteesida valmistatud hüdrasiini derivaatidest sahhariidi hüdrasoon, kasutades kuut erinevat monosahhariidi ning karakteriseerida saadudprodukte põhjaliku struktuuranalüüsi abil. Ühtlasi sooviti uurida sünteesitud ühendite bioloogilist aktiivsust.

KIRJANDUSE ÜLEVAADE

N,N-dialküülhüdrasoonid - süntees ja keemilised omadused

Hüdrasoonide süntees

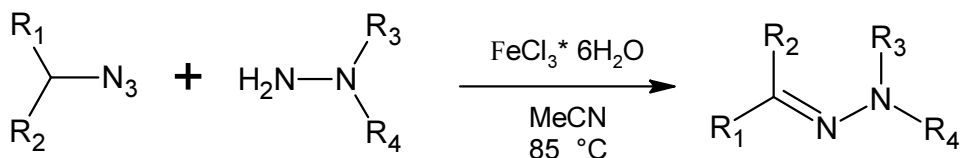
Hüdrasoonideks nimetatakse keemilisi ühendeid, mis on saadud karbonüülühendi (ketooni või aldehüüdi) ja primaarset aminorühma sisaldava hüdrasiini derivaadi kondensatsioonireaktsioonil (joonis 1). Neid võib vaadelda ka kui täiendavat N-N sidet sisaldavaid imiinide analooge.



Joonis 1. Hüdrasooni moodustumise reaktsioon.

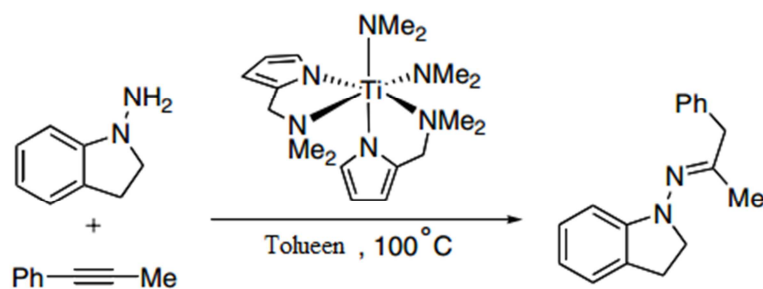
Hüdrasooni moodustumine toimub tihti spontaanselt. Seejuures võib reaktsiooni toimumise käigus märgata vee eraldumist, kui reaktsioonikeskkonnana kasutatakse veega mitte segunevat orgaanilist lahustit. Juhul, kui kasutatakse suurema steerilise takistusega karbonüülühendeid, võib osutuda vajalikuks happelise katalüsaatori, näiteks äädikhappe, TFA või *p*-tolueensulfoonhappe kasutamine. Lisaks on reaktsiooni kiiremaks läbiviimiseks ja saagise suurendamiseks võimalik reaktsioonisegu kuumutada või siduda protsessi käigus tekkinud vesi. Äärmuslikel juhtudel võib reaktsiooni kiirendamiseks kasutada ka Lewise happeid, näiteks trimetüülsilüülkloriidi või trimetüülalumiiniumi, mis moodustavad dialküülhüdrasiinidega reaktiivseid komplekse [2, 8-9].

Lisaks eelpool nimetatud klassikalisele kondensatsioonireaktsioonile on hüdrasoonide sünteesiks ka teisi võimalusi. Üheks neist on reaktsioon dialküülhüdrasiini ja alküülasiidi vahel, kasutades solvendina atsetonitriili ja katalüsaatorina raud(III)kloriidi (joonis 2) [10].



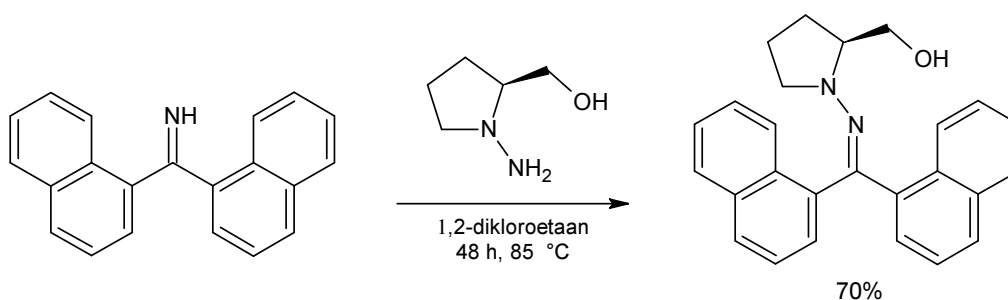
Joonis 2. Hüdrasooni moodustumine alküülasiidist [10].

Teise meetodina võib välja tuua alküünide hüdrohüdrasiinimist dialküülhüdrasiini ja titaankatalüsaatori juuresolekul (joonis 3) [11].



Joonis 3. 1-fenüülprop-1-üüni katalüütiline hüdrohüdrasiinimine. Modifitseeritud [11].

Ühtlasi on hüdrasoone võimalik saada ka ketimiinide transamineerimise käigus (joonis 4). Seda tüüpi reaktsioon annab hea saagise, kui ülehulgas kasutatavat hüdrasiini lisada kuumutatavale imiini lahusele pika ajaperioodi vältel järk-järgult [12].



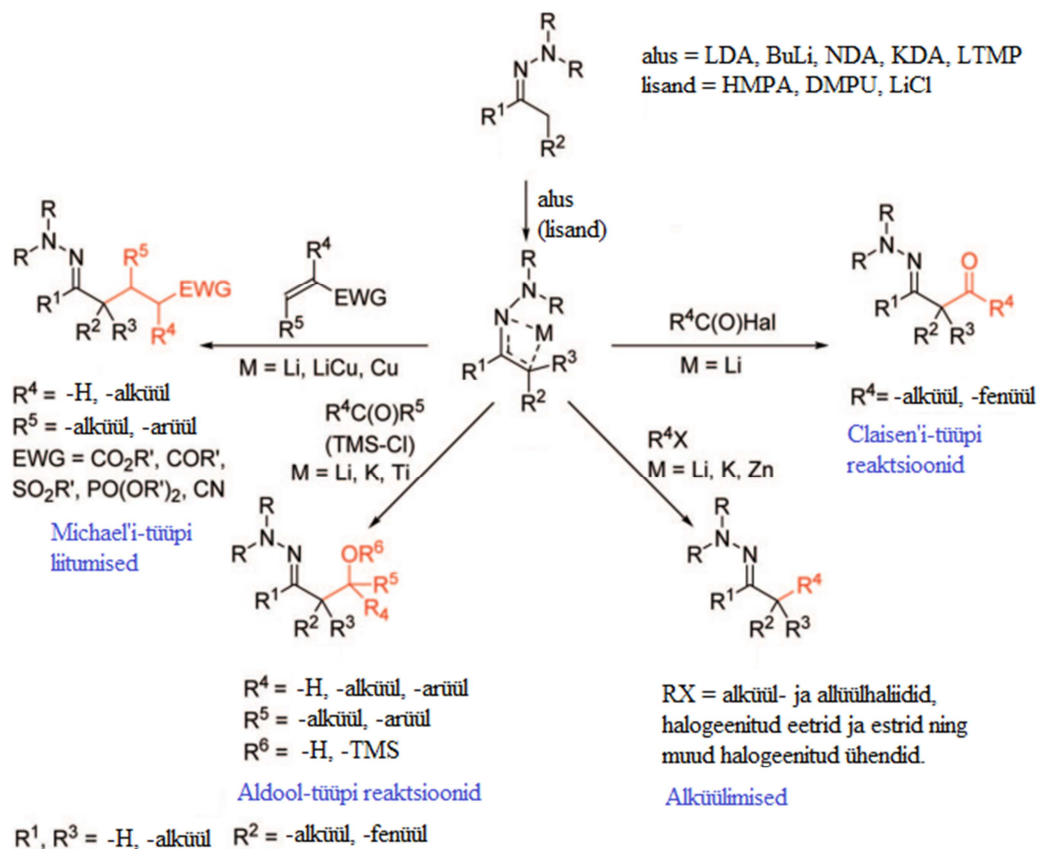
Joonis 4. Bisnaftüülmetaaniamiini transamineerimine 1-amino-2-(*S*)-hüdroksümetüül-pürrolidiiniga [12].

Hüdrasoonide keemilised omadused

Hüdrasoonid sisaldavad kahte sidet, mis kergesti katkevad. C=N kaksiksidet on võimalik lõhkuda tugevate oksüdeerijate ja redutseerijate toimel. Ühtlasi saab seda hüdrolüüsida, saades produktidena karbonüülühendi ja hüdrasiini derivaadi. Redutseerijate suhtes on tundlik ka N-N side – selle protsessi käigus tekivad primaarsed amiinid [2, 13].

Hüdrasoonide sünteetiline kasulikkus ilmneb eelkõige nende metallorgaaniliste derivaatide puhul. Hüdrasoonide α -prootonite pK_a on ligikaudu 10 võrra suurem kui vastavatel karbonüülühenditel [2]. Madalam happelisus tähendab aga vastava konjugeeritud aluse suuremat reaktiivsust. Siiski on C-H sideme happelisus ja metalleeritud hüdrasoonide stabiilsus piisavalt kõrge, et viia läbi α -metalleerimist mitmete leelismetalli amiididega nagu näiteks LDA, LTMP ja KDA [8, 14-15]. Ühtlasi toimib deprotoneerimine hästi ka liitiumi alküül derivaatide, näiteks *n*-BuLi ja *t*-BuLi-ga [8, 15]. Samas on α C-H sideme happelisus piisavalt madal selleks, et ei toimuks mitmete levinud aluste (klaas, karbonaadid, hüdroksiidid, alkoksiidid) poolt põhjustatud kiraalsete hüdrasoonide ratsemiseerumist, mis on levinud probleemiks mitmete aldehüüdide ja ketoonide puhul [2].

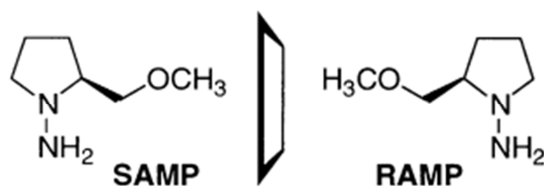
Hüdrasoonide deprotoneerimise regioselektiivsus on üldjuhul hea ja hästi ette ennustatav – kui ei esine aniooni stabiliseerivaid funktsionaalrühmasid, siis toimub see süsiniku juures, millel on vähem alküülasendajaid [16]. Metalleerimise käigus tekkinud asaenolaadi alküülimine toimub selektiivselt α -süsiniku juures, erinedes vastavate ketooni ja aldehüüdi enolaatide reaktsioonist elektrofiilidega, kus α -süsiniku alküülimisega konkureerib tihti ka *O*-alküülimine [2]. Võimalikke asaenolaadiga teostatavaid reaktsioone iseloomustab alljärgnev skeem.



Joonis 5. Asaenolaadi moodustamine ja sellega teostatavad reaktsioonid. Modifitseeritud [2].

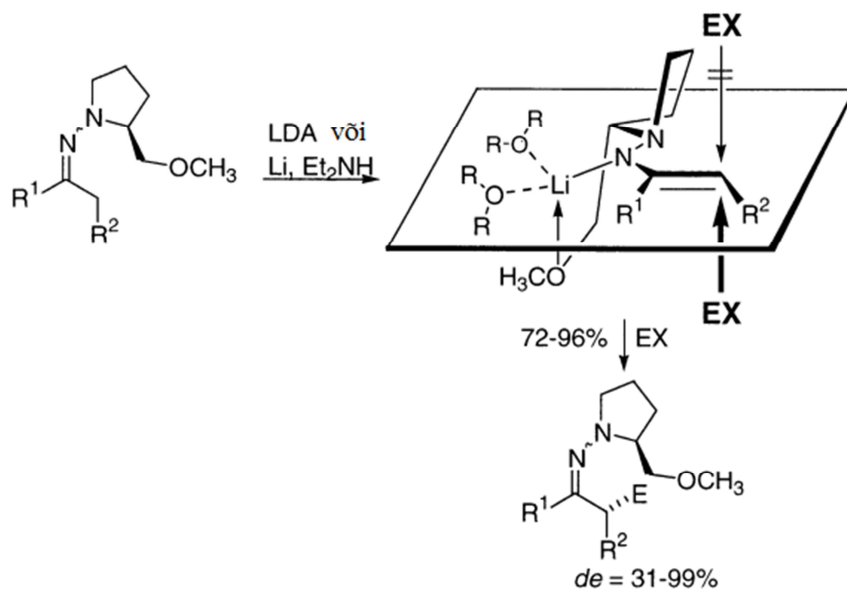
SAMP/RAMP hüdrasoonid

Teatud struktuuriga hüdrasiinidel on oluline roll asümmeetrilises sünteesis. Kõige tuntumad neist on 1-amino-2-*S*-metoksümetüülpürrolidiin (SAMP) ja selle stereoisomeer RAMP (joonis 6) [8].



Joonis 6. SAMP ja selle peegelisomeer RAMP [8].

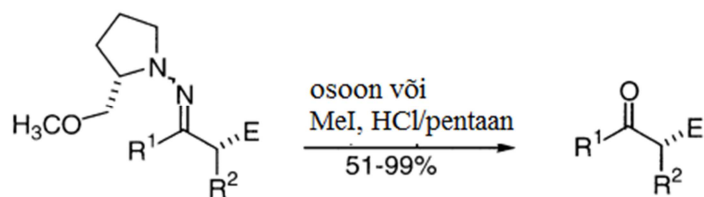
Eelnimetatud hüdrasiinide kondensatsioonil karbonüülühenditega saadakse vastavaid hüdrasoone kõrge saagisega (74-96%). Tekkinud hüdrasoonide reaktsioonil liitiumorgaaniliste ühenditega saadakse asaenolaadid, mille jäik ruumiline struktuur võimaldab elektrofilil läheneda α -süsinikule vaid ühelt küljelt ja tagab sellega alküülimise kõrge diastereoselektiivsuse (joonis 7) [8].



$R^1 = H, Me, Et, Pr; R^2 = Me, Et, Pr, iPr, Hex, Ph$
 või $R^1, R^2 = -(CH_2)_3-, -(CH_2)_4-, -(CH_2)_5-, -(CH_2)_6-, -CH=CH(CH_2)_2-$
 $R = Et, -(CH_2)_4-$
 $E = Me, Et, Pr, Bn, allüül$
 $X = Br, I$

Joonis 7. SAMP-hüdrasooni asaenolaadi moodustumine ja selle stereoselektiivne alküülimine. Modifitseeritud [8].

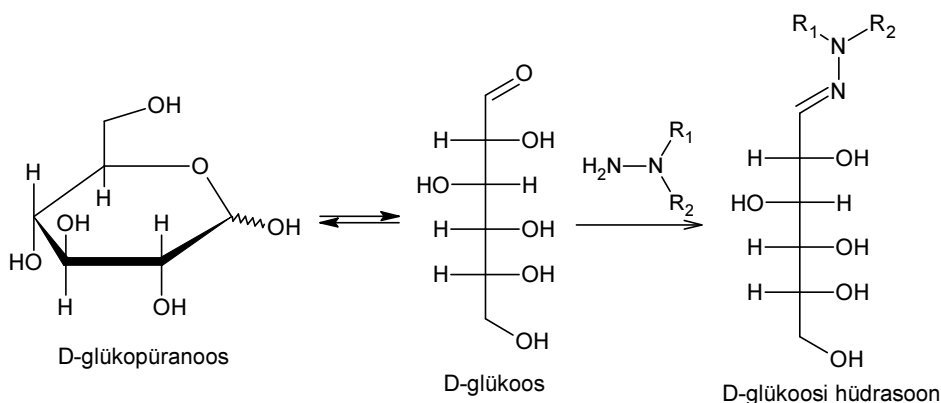
Tekkiva stereoisomeeri struktuur on ette ennustatav ja seega saab vastavalt soovitud struktuurile reaktsiooni läbiviimiseks kasutada kas SAMP- või RAMP-hüdrasooni [8]. Asaenolaadiga liituvate elektrofiilide valik on laialdane – võimalik on kasutada alküülhalogeniide, Michael'i aktseptoreid, karbonüülühendeid, oksiraane ja asiridiine [8]. Ühtlasi saab alküülitud hüdrasoonist lihtsalt tekitada tagasi karbonüülühendi, kui töödelda seda osooni või metüüljodiidi ning vesinikkloriidhappega pentaanis (joonis 8) [8]. Samas on karbonüülühendi taastamiseks võimalik kasutada ka teisi oksüdeerijaid ($NaIO_4$, $NaBO_3$, MCPBA, H_2O_2 , dimetüüldioksiraan) või redutseerijaid ($TiCl_3$, $SnCl_2$, VCl_2) [13].



Joonis 8. Karbonüülühendi taastamine alküülitud hüdrasoonist. Modifitseeritud [8].

Sahhariidide hüdrasoonid

Monosahhariidid esinevad valdavalt poolatsetaalses vormis, kuid on siiski tasakaalus oma mittetsüklilise vormiga, sisaldades selles konformatsioonis olles karbonüülrühma. Seega on mittetsükliline monosahhariidi vorm võimeline reageerima hüdrasiini derivaadiga, andes kondensatsiooniproduktina suhkru hüdrasooni. Kuna hüdrasooni moodustumine on sobivaid reaktsioonitingimusi kasutades praktiliselt pöördumatu protsess, siis kulgeb reaktsioon monosahhariidi ja asendatud hüdrasiini vahel lõpuni. Toimuvaid transformatsioone illustreerib D-glükoosi näitel joonis 9 [1, 17-18].



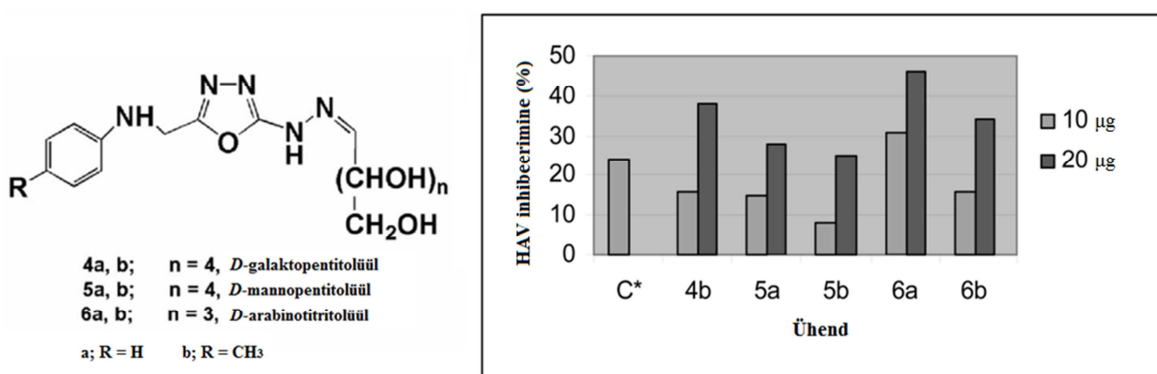
Joonis 9. D-glükoosi mittetsüklilise ja poolatsetaalse vormi tasakaal ning kondensatsioonireaktsioon *N,N*-diasendatud hüdrasiiniga.

Märkimisväärsed tööd suhkrute ja alküül- ning *N,N*-dialküülhüdrasiinide reaktsioonide uurimisel tegid 1960-ndatel aastatel saksa teadlased Hans Stroh ja Hans Scharnow. Nad sünteesisid enam kui 50 erinevat hüdrasooni, varieerides nii sahhariidi kui alküülhüdrasiini fragmenti. Parimaid saagiseid saavutati, kui suhkrutena kasutati D-mannoosi, D-galaktoosi, L-arabinoosi ja L-ramnoosi. Samas D-glükoosi ja D-ksüloosi korral kinnitati küll reaktsiooni toimumist planaarkromotograafia abil, kuid puhtaid produkte eraldada ei õnnestunud. Ühtlasi prooviti kasutada ka ketoose (D-fruktoos ja L-sorboos), kuid nende kasutamise puhul ei tuvastatud kondensatsiooniproduktide teket. Reaktsioonid toimusid hästi kõikide monoalküülhüdrasiinide (metüül-, etüül-, propüül-, butüül-, pentüül- ja heksüülhüdrasiin) korral. Märgata oli vaid mõningast saagise vähenemist alküülahela

pikenedes – etüülhüdrasiini kasutamise puhul saadi produkti olenevalt sahhariidist 91-100%, heksüülhüdrasiini korral varieerusid saagised 62-92% vahel. *N,N*-alküülhüdrasiinide süsinikahela pikkuse ja kondensatsiooniprodukti saagise vahel selget korrelatsiooni ei esinenud – saagised olid üldjuhul väga head (78-100%) [18].

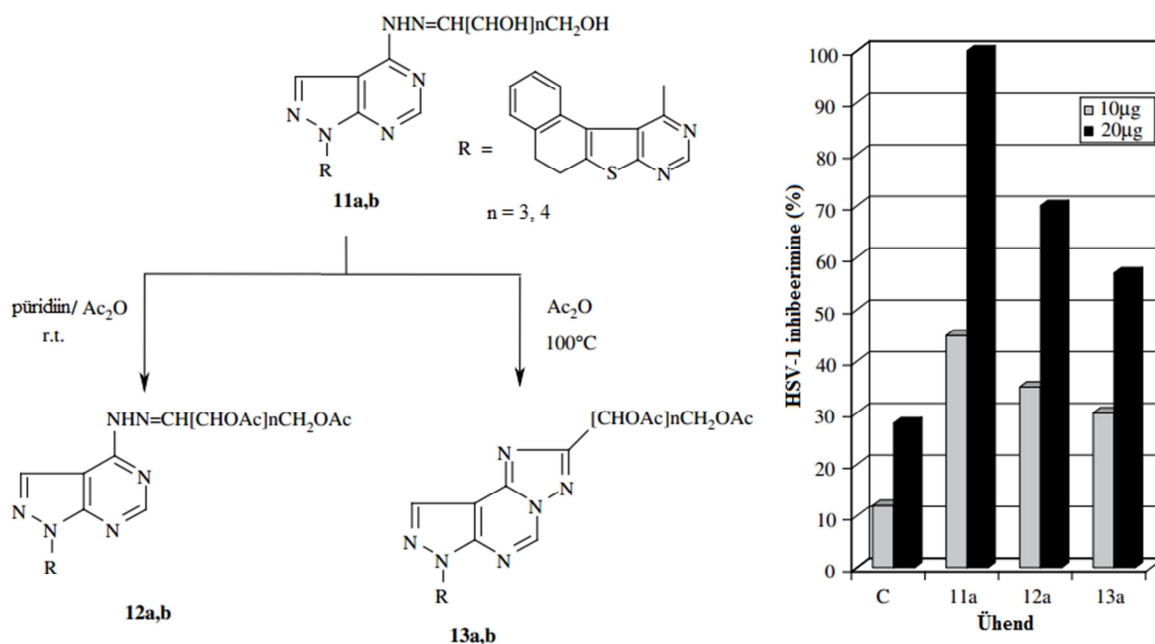
Viimastel aastakümnetel on mitmetest hüdrasino-fragmenti sisaldavatest heterotsükliilistest ühenditest sünteesitud vastavaid sahhariidide hüdrasoone, mis on oma olemuselt C-nukleosiidide atsükliilised analoogid. Seda tüüpi ühendid on üles näidanud aktiivsust nii bakterite, seente, viiruste kui ka vähirakkude vastu [3-7].

Alljärgneval joonisel on välja toodud ühe sahhariidi hüdrasoonide klassi struktuur ja nende mõju hepatiit A viirusele. Bioloogilistes katsetes kasutati kahte hüdrasooni kontsentratsiooni (10 ja 20 µg 10⁵ viirusosakese kohta) ning kontrollaineks oli adamantiin (C*). Antud uuringust tuli välja, et viirusvastased omadused ei sõltu ainult hüdrasiini fragmendist, vaid ka sahhariidi struktuurist: artiklis mainitud 5-*N*-arüülaminometüül-2-hüdrasino-1,3,4-oksadiasooli arabinoosi derivaat inhibeeris hepatiit A viirust ligikaudu kaks korda enam kui antud ühendi mannoosi hüdrasoon [4].



Joonis 10. 5-*N*-arüülaminometüül-2-hüdrasino-1,3,4-oksadiasooli hüdrasoonide struktuur ja nende tulemused hepatiit A viiruse inhibitsioonikatsetes. Modifitseeritud [4].

Teise näitena võib välja tuua pürasooli derivaatide sahhariidide hüdrasoonid. Joonisel 11 on näha *D*-glükoosi või *D*-riboosi hüdrasoonid (11a, b). Seda sahhariidi derivaati töödeldi täiendavalt etaanhappe anhüdriidiga. Kui reaktsiooni viidi läbi toatemperatuuril püridiini lahuses, saadi produktina *O*-peratsetüülitud hüdrasooni derivaadid 12a ja 12b. Kui reaktsioonikeskkonna temperatuuri tõsteti 100 kraadini ja kasutati nii reagendi kui lahustina Ac₂O-d, moodustusid *O*-peratsetüülitud triasolo-fragmenti sisaldavad ühendid 13a ja 13b [7].

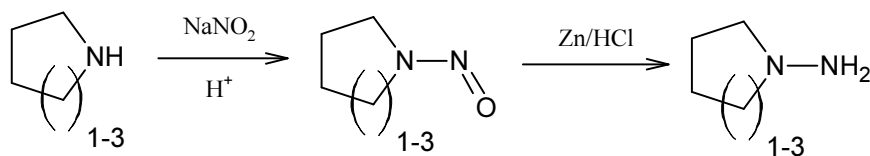


Joonis 11. Pürasooli derivaadi sahhariidi hüdrasoonid (11a, 11b) ja etaanhappe anhüdriidiga töötlemisel saadavad produktid (12a, 12b, 13a, 13b) ning nende HSV-1 inhibeerimiskatse tulemused. Modifitseeritud [7].

Valitud ühenditele teostati *herpes simplex* viiruse (HSV-1) inhibeerimiskatse. Kontrollainena (C) kasutati atsükloviiri ning ühendite kontsentratsioon eksperimentides oli kas 10 või $20\mu\text{g}$ 10^5 viirusosakese kohta. Parima tulemuse andis glükoosi hüdrasoon 11a, mis kõrgema kontsentratsiooni korral inhibeeris 99% viirusest. Atsüülitud (12a) ja triasolo-fragmenti sisaldavate (13a) glükoosi derivaatide viirusevastane toime oli madalam, kuid siiski märkimisväärne [7].

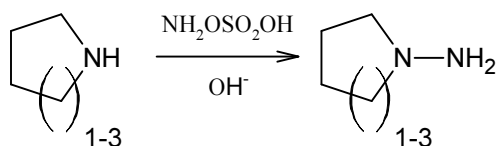
***N*-amino-pürrolidiini, -piperidiini ja -asepaani süntees**

Mitmed hüdrasino-rühma sisaldavad heterotsükliilised ühendid omavad tugevat bioloogilist toimet ja seetõttu pakuvad need huvi ravimikandidaatidena [19-22]. Ka käesoleva uurimistöo keskmes olevad *N*-aminopürrolidiin, -piperidiin ja -asepaan kuuluvad heterotsükliiliste asendatud hüdrasiinide klassi. Nende süntees lähtub üldjuhul sekundaarsest amiinist, mida töödeldakse anorgaanilise nitritiga happelises keskkonnas. Seejärel moodustub *N*-nitrosoamiin, mis redutseeritakse järgnevas etapis hüdrasiini derivaadiks (joonis 12). Antud meetodi puuduseks on *N*-nitrosoamiinide kõrge toksilisus ja kantserogeensus [23-25].



Joonis 12. *N,N*-hüdrasinotsüklite süntees üle nitrosoamiinide.

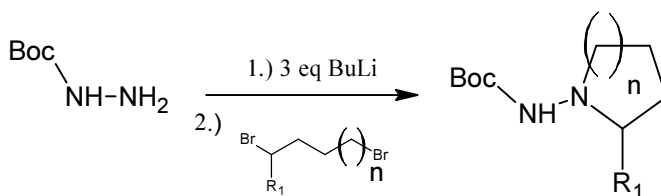
Teine võimalus, lähtudes samuti sekundaarsetest amiinidest, on nende elektrofiilne amineerimine, kasutades selleks sobivaid reagente, näiteks oksasiridiine, oksiime või hüdroksüülamiine. Kirjandusest leitud info põhjal kasutatakse *N,N*-hüdrasinotsüklite valmistamiseks enim hüdroksüülamiin-*O*-sulfoonhapet (joonis 13) [26].



Joonis 13. Sekundaarsete amiinide elektrofiilne amineerimine.

N,N-hüdrasinotsüklite sünteesi jaoks saab lähtuda ka hüdrasiinhüdraadist ja sobivast dihalogeniidist. *N*-aminopürrolidiini ja -piperidiini valmistamiseks sel viisil leidub mõningaid kirjeldusi, kuid käesolevas töös läbiviidud eksperimendid nende reprodutseerimiseks ei õnnestunud [27-28]. *N*-aminoasepaani sünteesi lähtudes dihalogeniidist pole teadaolevalt kirjeldatud.

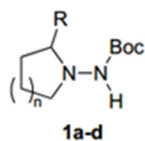
Rakendades Uno Mäeoru töögrupis välja töötatud polüanioonide strateegiat *Boc*-kaitstud hüdrasiini alküülimiseks, on võimalik sünteesida kaitstud *N,N*-hüdrasinotsükleid. Selle meetodi korral tekitatakse *Boc*-kaitstud hüdrasiinist *n*-butüüllitiumiga trianioon, mida seejärel alküülitakse dihalogeniidiga [29]. Saadud *N'*-*Boc*-*N,N*-hüdrasinotsüklilt on võimalik kergesti eemaldada kaitserühm kasutades TFA-d DCM-is [30].



Joonis 14. *N,N*-hüdrasinotsüklite sünteesiskeem, kasutades polüanioonide strateegiat.

Antud meetod annab häid tulemusi, kui alküüljana kasutada 1-bromo-4-klorobutaani või 1,5-dibromopentaani. Pikema ahela ja sekundaarse reaktsioonitsentriga dihalogeniidide korral vähenevad saagised märgatavalt (joonis 15). See nähtus on seletatav sellega, et ahela pikenedes suureneb steeriline takistus. Probleemi ületamiseks ja reaktsiooni

kiirendamiseks on võimalik tõsta reaktsioonikeskkonna temperatuuri, kuid see toob kaasa osalise trianiooni lagunemise ja selle arvelt ka saagise vähenemise [29].



	R	n	Reaktsioonitingimused	Saagis, %
1a^{13b}	H	1	Br(CH ₂) ₄ Cl, 4 h, –78 °C kuni 25 °C	71
1a	H	1	Br(CH ₂) ₄ Cl, 4 h, –40 °C kuni 25 °C	54
1a	H	1	Br(CH ₂) ₄ Cl, 3 h, 25 °C	52
1b⁹	H	2	Br(CH ₂) ₅ Br, 4 h, –78 °C kuni 25 °C	41
1b	H	2	Br(CH ₂) ₅ Br, 4 h, –40 °C kuni 25 °C	73
1b	H	2	Br(CH ₂) ₅ Br, 4 h, –10 °C kuni 25 °C	63
1b	H	2	Br(CH ₂) ₅ Br, 3 h, 25 °C	52
1c	H	3	Br(CH ₂) ₆ Br, 4 h, –78 °C kuni 25 °C	24
1c	H	3	Br(CH ₂) ₆ Br, 4 h, –40 °C kuni 25 °C	41
1c	H	3	Br(CH ₂) ₆ Br, 4 h, –10 °C kuni 25 °C	31
1d	Me	1	Br(CH ₂) ₃ CH(CH ₃)Br, 4 h, –78 °C kuni 25 °C	48
1d	Me	1	Br(CH ₂) ₃ CH(CH ₃)Br, 4 h, –40 °C kuni 25 °C	52

Joonis 15. *N,N*-hüdrasinotsüklite (**1a-d**) sünteesiks kasutatud elektrofiilid ja saadud saagised. Modifitseeritud [29].

Polüanioonide strateegia on universaalne meetod nii *N,N*-hüdrasinotsüklite kui ka teiste hüdrasiini derivaatide sünteesiks [29, 31-33]. Negatiivse poolena võib välja tuua vajaduse kasutada kolonnkromatograafiat *N'*-Boc-kaitstud *N,N*-hüdrasinotsükli puhastamiseks, mistõttu on takistatud meetodi kasutamine suuremastaapsel sünteesil. Ühtlasi, nagu iga kaitserühma kasutamise korral, lisandub sünteesirajale kaks lisaetappi – kaitsmine ja hilisem kaitserühma eemaldamine.

EKSPERIMENTAALNE OSA

Aparatuur ja töövahendid

Sünteesiks kasutatud sahhariidid (välja arvatud L-arabinoos), dihalogeniidid, metanool, MTBE ning TEA telliti firmast Sigma-Aldrich. L-arabinoos oli pärit Ungari firmast Reanal. Ülejäänud solvendid ning NaOH soetati ettevõttest Lach-Ner. Hüdrasiinhüdraat saadi firmast Acros Organics. Kõiki kemikaale ja lahusteid kasutati täiendava puhastamiseta.

Planaarkromatograafia teostati Macherey-Nagel silikageeliplaatidel Alugram® SIL G/UV 254. Visualiseerimiseks kasutati fosfomolübdeenhape 1% lahust etanoolis või väävelhappe 10% lahust etanoolis ning järgnevat kuumutamist kuumaõhupuhuriga.

Filterkromatograafia läbiviimiseks kasutati Merck'i silikageeli Kieselgel 70-230 mesh.

Infrapunasppektrite mõõtmiseks kasutati Perkin-Elmer spektromeetrit Spectrum BXII FTIR, mis oli varustatud Interspectrum'i tsinkseleniidkristallist ATR-seadmega. Spektritel on andmed esitatud cm^{-1} skaalas.

TMR spektrite mõõtmiseks olid kasutusel Bruker Avance II 200 ja Bruker Avance III HD spektromeetrid. ^1H spektrid mõõdeti sagedusel 200 MHz või 700 MHz ning ^{13}C spektrid sagedusel 50 MHz või 175 MHz. Lahustina kasutati DMSO- d_6 . TMR spektrite töötlemiseks kasutati Mestrelab Research S.L. programmi MestReNova v9.0.1-13254. Andmed spektritel on esitatud ppm skaalas.

HRMS spektrid mõõdeti elektropihustusionisatsiooni meetodil Thermo Electron LTQ Orbitrap spektromeetril.

Polümeerse aine elementkoostist mõõdeti Helios Nanolab 600 SEM-iga.

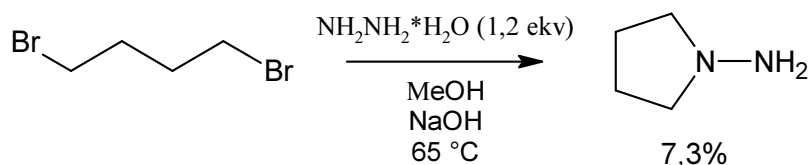
Bioloogilistel eksperimentidel saadud andmete analüüsiks ja graafiliseks esitamiseks kasutati programmi GraphPad Prism™ 5.00.

Kasutatud reagentide ja lahustite füüsikalised konstandid

Aine valem/nimetus	Puhtus, %	Molaarmass g/mol	st, °C	kt, °C/ mm Hg	$d^{20^{\circ}\text{C}}$, g/cm ³	$n_D^{20^{\circ}\text{C}}$	Viide
1,4-dibromobutaan	99	215,91	-20	63-65/6	1,808	1,519	[34]
1,5-dibromopentaan	97	229,94	-34	110/15	1,688	1,512	[34]
1,6-dibromoheksaan	96	243,97	-2	243	1,586	1,507	[34]
2-deoksü-D-riboos	97	134,13	89-90	-	-	-	[34]
Benseen	99,8	78,12	6	80	0,88	1,501	[35]
DCM	99,5	84,93	-97	40	1,32	1,424	[35]
D-galaktoos	99	180,16	168-170	-	-	-	[34]
D-mannoos	99	180,16	133-140	-	1,539	-	[34]
D-riboos	98	150,13	88-92	-	-	-	[34]
Et ₂ O	99	74,12	-117	35	0,71	1,353	[35]
Et ₃ N	99	101,19	-115	89	0,726	1,401	[34]
Etanool	96	46,07	-117	78	0,81	1,364	[35]
EtOAc	99,7	88,11	-83	75-79	0,90	1,372	[35]
Hüdrasiinhüdraat	100	50,06	-52	120	1,032	1,430	[36]
L-arabinoos	99	150,13	159-160	-	1,585	-	[37]
L-ramnoosi monohüdraat	99	182,17	90-95	-	1,471	-	[34]
Metanool	99,8	32,04	-98	64-65	0,791	1,329	[34]
MTBE	99,8	88,15	-109	55-56	0,740	1,369	[34]
NaOH	98	40,00	320	1390	-	-	[35]

N-aminopürrolidiini süntees

Eksperiment 1



Joonis 16.

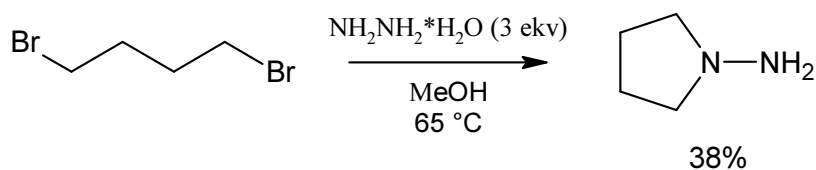
Magnetsegaja pulga ja püstjahutiga varustatud 100 ml kahe kaelaga ümarkolbi mõõdeti 9,5 ml metanooli ja 5,84 ml 100%-list hüdrasiinhüdraati (0,12 mol). Segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril ja lisati tilkhaaval 3,00 ml 1,4-dibromobutaani (25,1 mmol). Selleks hetkeks oli lahuse pH langenud umbes 9-ni, mistõttu järgneva 2 tunni jooksul lisati lisaks 8,94 ml 1,4-dibromobutaanile (74,9 mmol) ka tilkhaaval 48% NaOH lahust (12,7 g, 0,152 mol), nii et lahuse pH oleks vahemikus 8...11. Reaktsiooni jälgiti TLC-ga (eluent: MeOH/ Et_3N 99:1). 1 tunni möödudes pärast reagentide lisamise lõppu oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Reaktsioonisegu kanti üle ühekaelalisse 100 ml ümarkolbi ning metanool eemaldati vaakumdestillatsiooni teel. Kolvi põhja jäänud viskoosset vedelikku ekstraheeriti 5 korda Et_2O -ga ja 5 korda DCM-iga. Saadud ekstraktid ühendati, kuivatati veevabal magneesiumsulfaadil ning filtreeriti. Magneesiumsulfaati pesti 3 korda DCM-iga *N*-aminopürrolidiini kvantitatiivselt ülekanmiseks. Filtraadist eemaldati solventid rotaatoraurusti abil ning toorproduktile teostati fraktsioneeriv destillatsioon (keemistemperatuur 46 °C rõhul 41 mbar). Produktina saadi **7,3%** (628 mg, 7,3 mmol) värvitut vedelikku, *N*-aminopürrolidiini.

Produkt identifitseeriti ^1H ja ^{13}C TMR spektritega.

^1H TMR (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,51 (m, 4H, NCH_2CH_2); 1,64 (m, 4H, NCH_2CH_2).

^{13}C TMR (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 58,71 (NCH_2); 21,94 (NCH_2CH_2).

Eksperiment 2

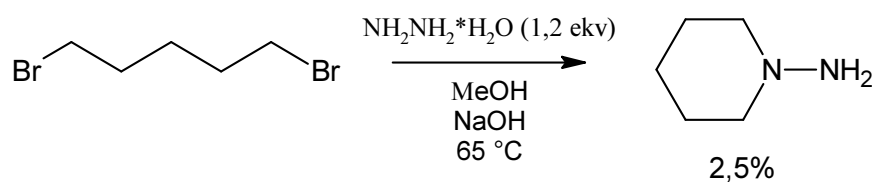


Joonis 17.

Magnetsegaja pulga ja püstjahutiga varustatud 100 ml kahe kaelaga ümarkolbi mõõdeti 23,7 ml metanooli ja 14,61 ml 100%-list hüdrasiinhüdraati (0,3 mol). Segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril ja lisati 2 tunni jooksul 11,94 ml (0,1 mol) 1,4-dibromobutaani. Reaktsiooni jälgiti TLC-ga (eluent: MeOH/Et₃N 99:1). 2 tunni möödudes oli reaktsioon praktiliselt lõpuni kulgenud, kuid segu kuumutati segades üle öö. Reaktsioonisegu kanti üle ühekaelalisse 100 ml ümarkolbi ning metanool eemaldati vaakumdestillatsiooni teel. Kolvi põhja jäänud viskoossele vedelikule lisati pH tõstmiseks 10 ml 48% NaOH lahust ning seejärel ekstraheeriti seda segu 10 korda DCM-iga. Ekstraktid ühendati, kuivatati veevabal magneesiumsulfaadil ning filtreeriti. Magneesiumsulfaati pesti 3 korda DCM-iga produkti kvantitatiivseks ülekandmiseks. Filtraadist eemaldati solventid rotaatoraurusti abil ning toorproduktile teostati fraktsioneeriv destillatsioon. Produktina saadi **38%** (3,30 g, 38,4 mmol) *N*-aminopürrolidiini.

***N*-aminopiperidiini süntees**

Eksperiment 1



Joonis 18.

Magnetsegaja pulga ja püstjahutiga varustatud 100 ml kahe kaelaga ümarkolbi mõõdeti 9,5 ml metanooli ja 5,84 ml 100%-list hüdrasiinhüdraati (0,12 mol). Segu kuumutati 65 °C juures ja lisati tilkhaaval 3,40 ml 1,5-dibromopentaani (25,0 mmol). Selleks ajaks oli lahuse pH langenud umbes 9-ni, mistõttu järgneva 2 tunni jooksul lisati lisaks 10,22 ml 1,5-dibromopentaanile (75,0 mmol) ka tilkhaaval 48% NaOH lahust (12,7 g, 0,152 mol), nii et lahuse pH oleks vahemikus 8...11. Reaktsiooni jälgiti planaarkromatograafia abil (eluent: MeOH/Et₃N 99:1). 2 tunni möödudes pärast dibromiidi ja naatriumhüdroksiidi lisamise lõppu oli reaktsioon praktiliselt lõpuni kulgenud, kuid kuumutamist ja segamist jätkati üle öö. Reaktsioonisegu kanti üle ühekaelalisse 100 ml ümarkolbi ning metanool eemaldati rotaatoraurusti abil. Kolvi põhja jäänud viskoosset vedelikku ekstraheeriti 5 korda Et₂O-ga ja 3 korda DCM-iga. Saadud ekstraktid ühendati, kuivatati veevabal magneesiumsulfaadil ning filtreeriti. Magneesiumsulfaati pesti 3 korda DCM-iga *N*-

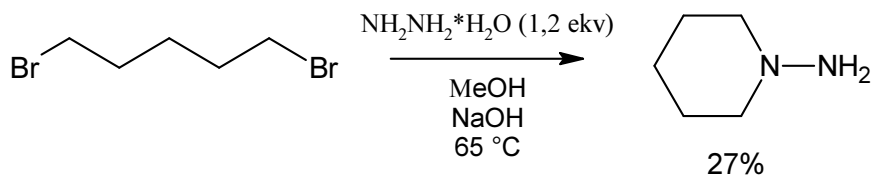
aminopiperidiini jääkide ülekandmiseks. Filtraadist eemaldati solventid rotaatoraurustiga ning toorproduktile teostati fraktsioneeriv destillatsioon (keemistemperatuur 64 °C rõhul 10 mbar). Produktina saadi **2,5%** (252 mg, 2,5 mmol) õlgkollast vedelikku, *N*-aminopiperidiini.

Produkt tuvastati ^1H ja ^{13}C TMR spektritega.

^1H TMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ 2,41 (m, 4H, NCH_2); 1,49 (quint, $J = 5,5$ Hz, 4H, NCH_2CH_2); 1,29 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

^{13}C TMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 60,10 (NCH_2); 25,51 (NCH_2CH_2); 23,02 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

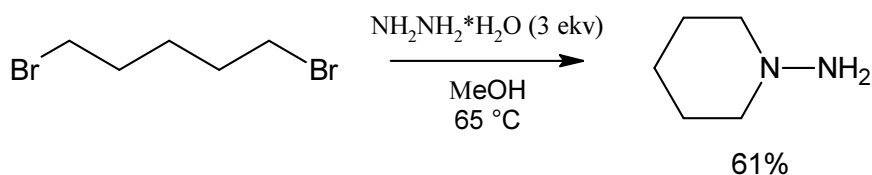
Eksperiment 2



Joonis 19.

Eksperimendi esimene pool viidi läbi samamoodi nagu eelnevalt kirjeldatud. Pärast metanooli eemaldamist rotaatoraurustiga, ekstraheeriti aurustusjääki 10 korda dietüüleetriga. Orgaanilised faasid ühendati, kuivatati veevabal magneesiumsulfaadil ning filtreeriti. Magneesiumsulfaati pesti 3 korda Et_2O -ga *N*-aminopiperidiini täielikuks ülekandmiseks. Filtraadist eemaldati solvent rotaatoraurusti abil kuni rõhuni 50 mbar temperatuuril 40 °C. Antud meetodika abil saadi **27%** (26,8 mmol, 2,68 g) kollakat läbipaistvat vedelikku, mis ^1H ja ^{13}C TMR spektrite järgi osutus *N*-aminopiperidiiniks, milles tuvastati ka väheseid metanooli ja dietüüleetri lisandeid (^1H TMR järgi 4,1% MeOH ja 3,8% Et_2O).

Eksperiment 3

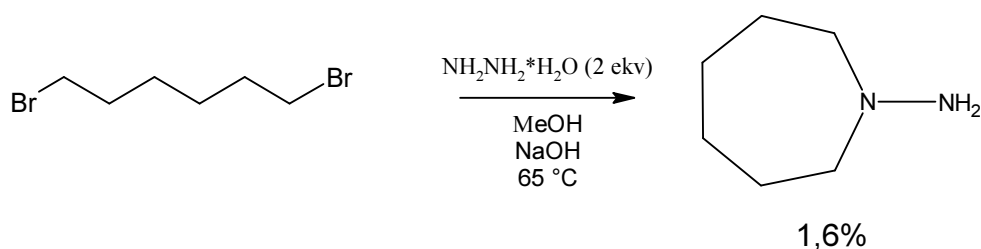


Joonis 20.

Magnetsegaja pulga ja püstjahutiga varustatud kahe kaelaga 100 ml ümarkolbi mõõdeti 7,30 ml (0,15 mol) hüdrasiinhüdraati ja 11,8 ml metanooli. Lahust kuumutati 65 °C juures ja lisati 2 tunni jooksul tilkhaaval 6,81 ml (0,05 mol) 1,5-dibromopentaani. Reaktsiooni jälgiti planaarkromatograafia abil (eluent: MeOH/Et₃N 99:1). Pärast üle öö kuumutamist oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Lahus kanti üle ühekaelalisse 100 ml ümarkolbi ning metanool eemaldati rotaatoraurusti abil. Kolvi põhja jäänud viskoossele vedelikule lisati pH tõstmiseks 5 ml 48% NaOH lahust ning seejärel ekstraheeriti seda 10 korda Et₂O-ga. Ekstraktid ühendati, kuivatati veevabal magneesiumsulfaadil ja filtreeriti. Magneesiumsulfaati pesti 3 korda Et₂O-ga, lahus dekanteeriti ja filtreeriti ning ühendati orgaanilise faasiga. Saadud lahusest eemaldati solvent rotaatoraurusti abil kuni rõhuni 50 mbar temperatuuril 40 °C. Produktina saadi **61%** (30,4 mmol, 3,04 g) *N*-aminopiperidiini, milles oli lisanditena vähesel määral metanooli ja Et₂O-d (¹H TMR järgi 1,5% MeOH ja 1,4% Et₂O).

***N*-aminoasepaani süntees**

Ekspperiment 1



Joonis 21.

Magnetsegaja pulga ja püstjahutiga varustatud kahe kaelaga 100 ml ümarkolbi mõõdeti 9,74 ml hüdrasiinhüdraati (0,2 mol) ning 15,8 ml metanooli. Lahust kuumutati metanooli keemistemperatuuril ning lisati tilkhaaval 6,15 ml 1,6-dibromoheksaani (0,04 mol). Selleks ajaks oli lahuse pH langenud umbes 9,5-ni, mistõttu hakati lisama lisaks 9,23 ml 1,6-dibromoheksaanile (0,06 mol) tilkhaaval ka 48% NaOH lahust (12,7 g, 0,152 mol) hoides reaktsioonisegu pH vahemikus 8...11. Protsessi jälgiti TLC-ga (eluent: MeOH/Et₃N 99:1). Aja möödudes tekkis kolbi valge sade. Reaktsioonil lasti käia üle öö, selle aja jooksul oli see kulgenud lõpuni. Tekkinud sade eraldati filtreerimise teel, seda pesti kaks korda veega ja kaks korda metanooliga ning kuivatati vaakumis 24 tunni vältel. Saadi 1,488 g valget polümeerset ainet. Sademe eraldamisel saadud filtraat aurustati kokku ning seda ekstraheeriti 10 korda Et₂O-ga. Saadud ekstraktid ühendati, kuivatati veevabal

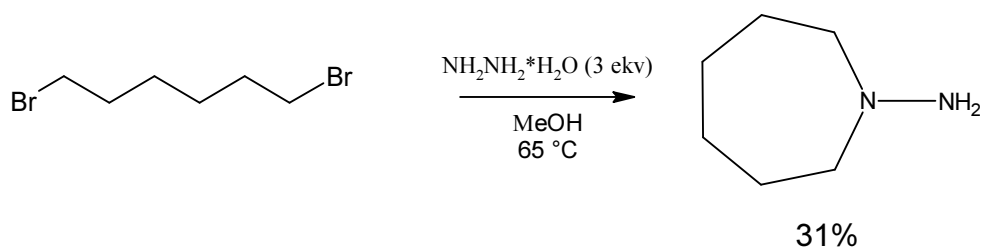
magneesiumsulfaadil ning filtreeriti. Magneesiumsulfaati pesti 3 korda Et₂O-ga *N*-aminoasepaani täielikuks ülekandmiseks. Filtraadist eemaldati solvendid rotaatoraurustiga kuni rõhuni 20 mbar temperatuuril 40 °C. Saadi 186 mg (1,63 mmol) õrnroosat läbipaistvat vedelikku, mis osutus *N*-aminoasepaaniks. Saagis **1,6%**.

Produkt identifitseeriti ¹H ja ¹³C TMR spektritega.

¹H TMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): 2,67 (m, 4H, NCH₂); 1,53 (m, 8H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 61,87 (NCH₂); 25,99 (NCH₂CH₂); 25,50 (NCH₂CH₂CH₂).

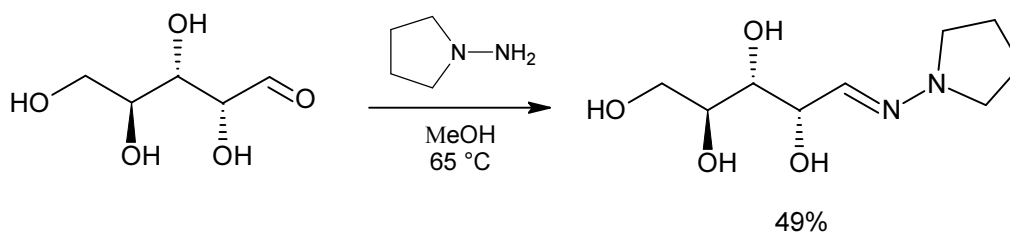
Eksperiment 2



Joonis 22.

500 ml kahe kaelaga ümarkolbi, mis oli varustatud magnetsegaja pulga ja püstjahutiga, lisati 14,61 ml hüdrasiinhüdraati (0,3 mol) ja 237 ml metanooli. Lahust kuumutati metanooli keemistemperatuuri juures ning lisati 2 tunni jooksul tilkhaaval 15,38 ml 1,6-dibromoheksaani. Reaktsiooni jälgiti TLC-ga (eluent: MeOH/Et₃N 99:1). Pärast 24 tunni möödumist oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Segu kanti üle ühekaelalisse 500 ml ümarkolbi ning solvent eemaldati rotaatoraurusti abil. Kolvi põhja jäänud viskoossele vedelikule lisati pH tõstmiseks 10 ml 48% NaOH lahust. Segu ekstraheeriti 10 korda Et₂O-ga. Ekstraktid ühendati, kuivatati veevabal magneesiumsulfaadil ning filtreeriti. MgSO₄ pesti 3 korda Et₂O-ga, lahus dekanteeriti ja filtreeriti ning ühendati ekstraktiga. Filtraadist eemaldati solvendid rotaatoraurusti abil kuni rõhuni 20 mbar temperatuuril 40 °C. Produktina saadi 3,53 g (30,96 mmol) õrnroosat läbipaistvat vedelikku, mis osutus *N*-aminoasepaaniks. Saagis **31%**. Produkt sisaldas vähesel määral ka metanooli (¹H TMR järgi 0,9%).

L-arabinoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni süntees



Joonis 23.

25 ml ühe kaelaga ümarkolbi, mis oli varustatud magnetsegaja pulga ning püstjahutiga, mõõdeti 6 ml metanooli ja lahustati selles 242 mg *N*-aminopürrolidiini (2,81 mmol). Lahusele lisati 282 mg L-arabinoosi (1,88 mmol). Segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril, reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). Ühe tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminopürrolidiini kõrvaldamiseks 3 korda 5 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine EtOAc-s. Sadenenud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 201 mg (0,92 mmol) L-arabinoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni valgete kristallide kujul. Saagis **49%**.

Produkt tuvastati FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

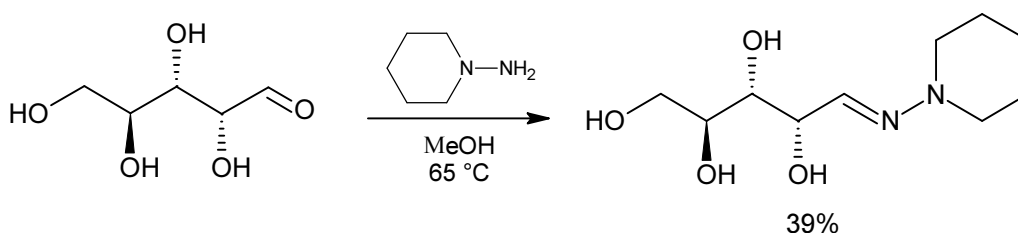
FTIR ν (cm⁻¹): 3289, 2925, 2846, 1595, 1392, 1340, 1330, 1290, 1212, 1073, 1037, 1012, 932, 886, 859, 812, 762, 687, 666, 642.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,51 (d, J = 6,2 Hz, 1H, CH=N); 4,59 (d, J = 6,0 Hz, 1H, OH); 4,53 (d, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,42 (d, J = 7,1 Hz, 1H, OH); 4,34 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,17 (td, J = 6,0; 2,5 Hz, 1H, CH-2); 3,56 (ddd, J = 11,0; 5,6; 3,4 Hz, 1H, CH-5); 3,48 (m, 1H, CH-4); 3,38 (m, 1H, CH-5'); 3,29 (td, J = 7,6, 2,5 Hz, 1H, CH-3); 3,03 (m, 4H, NCH₂); 1,80 (m, 4H, NCH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 137,60 (C=N); 73,75 (C-3); 71,25 (C-4); 70,56 (C-2); 63,38 (C-5); 50,64 (NCH₂); 22,60 (NCH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 219,13393 Da, määratud 219,1330 Da.

L-arabinoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooni süntees



Joonis 24.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lisati sellele 300 mg *N*-aminopiperidiini (3 mmol). Lahusele lisati 300 mg L-arabinoosi (2 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 2 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminopiperidiini liia kõrvaldamiseks 4 korda 5 ml Et₂O-ga. Pärast seda teostati ümberkristallimine EtOAc-s. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 182 mg (0,78 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus L-arabinoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooniks. Saagis **39%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

FTIR ν (cm⁻¹): 3250, 2942, 2920, 2840, 2807, 1612, 1444, 1397, 1378, 1260, 1247, 1150, 1077, 1029, 982, 936, 897, 883, 871, 857, 773, 754, 697, 655, 634.

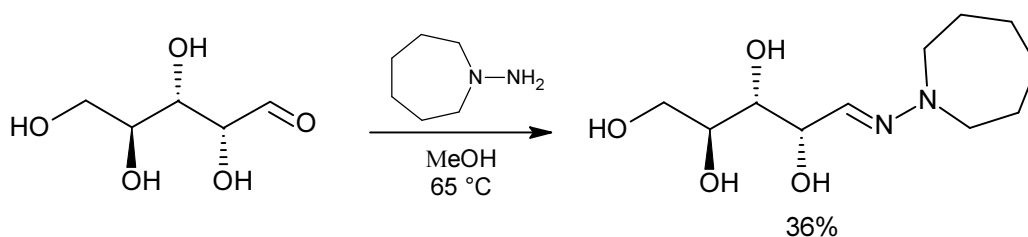
¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,86 (d, J = 5,9 Hz, 1H, CH=N); 4,62 (d, J = 6,0 Hz, 1H, OH); 4,53 (d, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,43 (d, J = 7,1 Hz, 1H, OH); 4,32 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,21 (td, J = 5,9; 2,3 Hz, 1H, CH-2); 3,57 (ddd, J = 11,0; 5,7; 3,3 Hz, 1H, CH-5); 3,48 (m, 1H, CH-4); 3,38 (m, 1H, CH-5'); 3,30 (td, J = 8,2; 2,4 Hz, 1H, CH-3); 2,86 (oct, J = 6,4 Hz, 4H, NCH₂); 1,59 (quint, J = 5,6 Hz, 4H, NCH₂CH₂); 1,42 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 139,34 (C=N); 73,69 (C-3); 71,16 (C-4); 70,67 (C-2); 63,39 (C-5); 51,58 (NCH₂); 24,56 (NCH₂CH₂); 23,68 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 233,14958 Da, määratud 233,14923 Da.

L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni süntees

Eksperiment 1



Joonis 25.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 10 ml ümarkolbi mõõdeti 2,5 ml metanooli ja lahustati selles 136 mg *N*-aminoasepaani (1,19 mmol). Saadud lahusele lisati 120 mg L-arabinoosi (0,8 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). Ühe tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminoasepaani liia kõrvaldamiseks 4 korda 2 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine EtOAc-s. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 71 mg (0,29 mmol) kollakat kristalset ainet, mis osutus L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooniks. Saagis **36%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

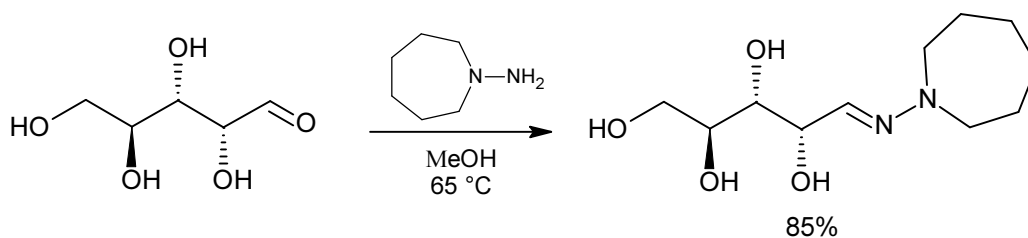
FTIR ν (cm⁻¹): 3269, 2917, 2848, 1593, 1442, 1382, 1361, 1312, 1229, 1209, 1124, 1068, 1035, 986, 970, 936, 920, 877, 739, 725, 622.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,42 (d, J = 6,2 Hz, 1H, CH=N); 4,51 (dd, J = 5,8; 3,3 Hz, 2H, OH); 4,36 (d, J = 7,0 Hz, 1H, OH); 4,31 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,18 (td, J = 5,9; 2,5 Hz, 1H, CH-2); 3,57 (ddd, J = 11,0; 5,6; 3,4 Hz, 1H, CH-5); 3,48 (m, 1H, CH-4); 3,38 (m, 1H, CH-5'); 3,28 (td, J = 7,9; 2,5 Hz, 1H, CH-3); 3,25 (t, J = 5,7 Hz, 4H, NCH₂); 1,63 (m, 4H, NCH₂CH₂); 1,49 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 131,30 (C=N); 73,92 (C-3); 71,36 (C-4); 70,79 (C-2); 63,37 (C-5); 52,45 (NCH₂); 27,70 (NCH₂CH₂); 26,68 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 247,16523 Da, määratud 247,16497 Da.

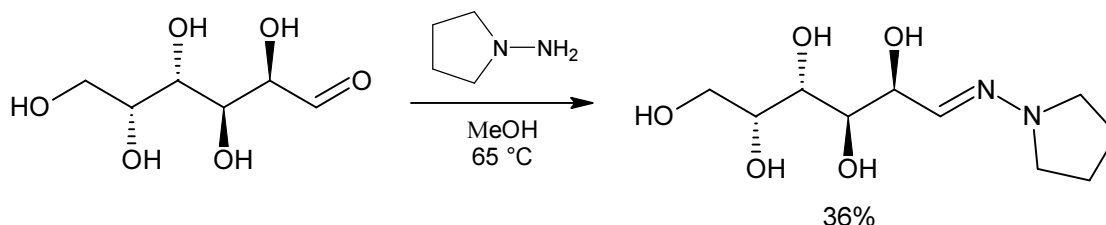
Eksperiment 2



Joonis 26.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 10 ml metanooli ja selles lahustati 580 mg *N*-aminoasepaani (5,09 mmol). Saadud lahusele lisati 509 mg *L*-arabinoosi (3,39 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). Ühe tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti 3 korda 5 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine segus MTBE/EtOH 1:1. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 712 mg (2,89 mmol) *L*-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni. Saagis **85%**.

D-galaktoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni süntees



Joonis 27.

10 ml ümarkolbi, mis oli varustatud magnetsegaja pulga ning püstjahutiga, mõõdeti 4 ml metanooli ja lahustati selles 172 mg *N*-aminopürrolidiini (2 mmol). Lahusele lisati 240 mg *D*-galaktoosi (1,33 mmol). Segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril, jälgides reaktsiooni TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). Kahe tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Jahtudes sadenes produkt lahusest välja, mistõttu see filtreeriti ning pesti Et₂O-ga. Produktina saadi 120 mg (0,48 mmol) *D*-galaktoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni valgete kristallide kujul. Saagis **36%**.

Saadus identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

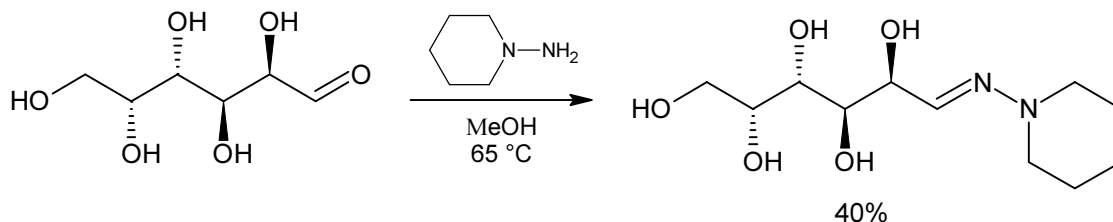
FTIR ν (cm⁻¹): 3370, 3259, 2934, 2831, 1598, 1412, 1334, 1284, 1219, 1132, 1101, 1070, 1052, 1011, 900, 868, 786, 715, 666.

^1H TMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ 6,55 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H, CH=N); 4,51 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H, OH); 4,42 (t, $J = 6,2$, 1H, OH); 4,31 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H, OH); 4,23 (td, $J = 6,2$; 1,8 Hz, 1H, CH-2); 4,13 (m, 2H, OH); 3,70 (qd, $J = 6,5$; 1,5 Hz, 1H, CH-5); 3,48 (ddd, $J = 9,2$; 7,6; 1,5 Hz, 1H, CH-6); 3,40 (m, 3H, CH-3, CH-4, CH-6'); 3,04 (m, 4H, NCH₂); 1,80 (m, 4H, NCH₂CH₂).

^{13}C TMR (50 MHz, DMSO- d_6) δ 138,10 (C=N); 72,52 (C-3); 70,48 (C-5); 69,98 (C-2); 69,27 (C-4); 63,10 (C-6); 50,70 (NCH₂); 22,61 (NCH₂CH₂).

HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}^+]$: arvutatud 249,14450 Da, määratud 249,14414 Da.

D-galaktoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooni süntees



Joonis 28.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lahustati selles 300 mg *N*-aminopiperidiini (3 mmol). Lahusele lisati 360 mg D-galaktoosi (2 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 3 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminopiperidiini liia kõrvaldamiseks 3 korda 5 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine EtOAc-s. Välja kristallunud aine filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 210 mg (0,80 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus D-galaktoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooniks. Saagis **40%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ^1H ja ^{13}C TMR ning HRMS spektritega:

FTIR ν (cm⁻¹): 3270, 2933, 2852, 2815, 1608, 1378, 1342, 1211, 1075, 1064, 1031, 986, 914, 889, 868, 740, 701.

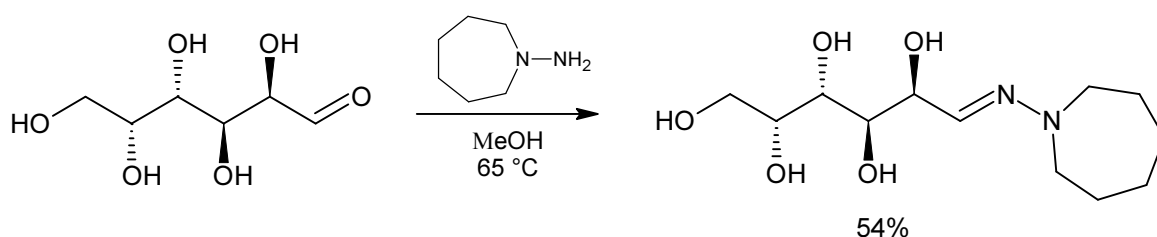
^1H TMR (700 MHz, DMSO- d_6) δ 6,89 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H, CH=N); 4,55 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H, OH); 4,45 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H, OH); 4,35 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H, OH); 4,25 (td, $J = 6,1$; 1,9 Hz, 1H, CH-2); 4,15 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H, OH); 3,70 (qd, $J = 6,5$; 1,4 Hz, 1H, CH-5); 3,49 (ddd, J

= 9,2; 7,6; 1,4 Hz, 1H, CH-6); 3,43 (m, 1H, CH); 3,38 (m, 2H, CH); 2,86 (m, 4H, NCH₂); 1,59 (quint, *J* = 5,7 Hz, 4H, NCH₂CH₂); 1,42 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 139,74 (C=N); 72,46 (C-3); 70,58 (C-5); 69,93 (C-2); 69,20 (C-4); 63,10 (C-6); 51,61 (NCH₂); 24,58 (NCH₂CH₂); 23,69 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 263,16015 Da, määratud 263,15996 Da.

D-galaktoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni süntees



Joonis 29.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lahustati selles 290 mg *N*-aminoasepaani (2,54 mmol). Saadud lahusele lisati 306 mg D-galaktoosi (1,7 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1 tunni ja 45 minuti möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminoasepaani liia kõrvaldamiseks 3 korda 4 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine segus MTBE/EtOH 1:1. Sadestunud aine filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 253 mg (0,92 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus D-galaktoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooniks. Saagis **54%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

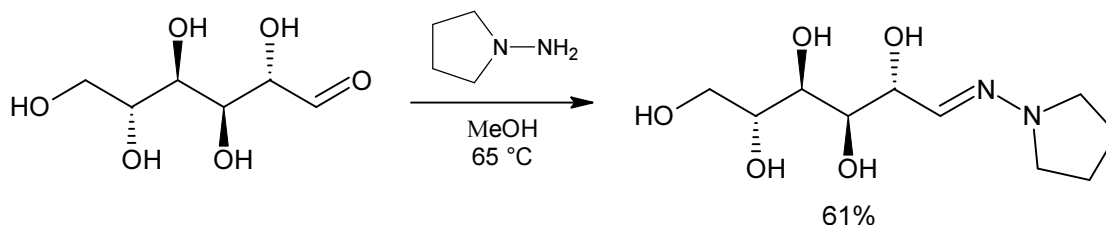
FTIR ν (cm⁻¹): 3263, 2920, 2852, 1591, 1442, 1384, 1361, 1347, 1229, 1209, 1126, 1061, 1031, 1015, 986, 970, 918, 871, 843, 738, 727, 707.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,46 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H, CH=N); 4,44 (m, 2H, OH); 4,28 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, OH); 4,23 (td, *J* = 6,2; 1,9 Hz, 1H, CH-2); 4,13 (m, 2H, OH); 3,71 (qd, *J* = 6,5; 1,5 Hz, 1H, CH-5); 3,49 (ddd, *J* = 9,1, 7,6, 1,5 Hz, 1H, CH-6); 3,41 (m, 3H, CH-3, CH-4, CH-6'); 3,26 (t, *J* = 5,7 Hz, 4H, NCH₂); 1,64 (m, 4H, NCH₂CH₂); 1,49 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂).

^{13}C TMR (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 131,76 ($\text{C}=\text{N}$); 72,70 ($\text{C}-3$); 70,69 ($\text{C}-5$); 70,03 ($\text{C}-2$); 69,37 ($\text{C}-4$); 63,13 ($\text{C}-6$); 52,48 (NCH_2); 27,73 (NCH_2CH_2); 26,71 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).

HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}^+]$: arvutatud 277,17580 Da, määratud 277,1751 Da.

D-mannoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni süntees



Joonis 30.

10 ml ümarkolbi, mis oli varustatud magnetsegaja pulga ning püstjahutiga, mõõdeti 4 ml metanooli ja lahustati selles 172 mg *N*-aminopürrolidiini (2 mmol). Lahusele lisati 240 mg D-mannoosi (1,33 mmol). Segu kuumutati 65 °C juures, jälgides reaktsiooni TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). Kahe tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati segust rotaatoraurusti abil ning aurustusjääki tritureeriti 3 korda 3 ml Et_2O -ga. Pärast seda viidi läbi ümberkristallimine (solvent: MTBE/EtOH 1:1). Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda Et_2O -ga ning kuivatati. Produktina saadi 200 mg (0,81 mmol) D-mannoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni valgete kristallide kujul. Saagis **61%**.

Saadus identifitseeriti FTIR, ^1H ja ^{13}C TMR ning HRMS spektritega:

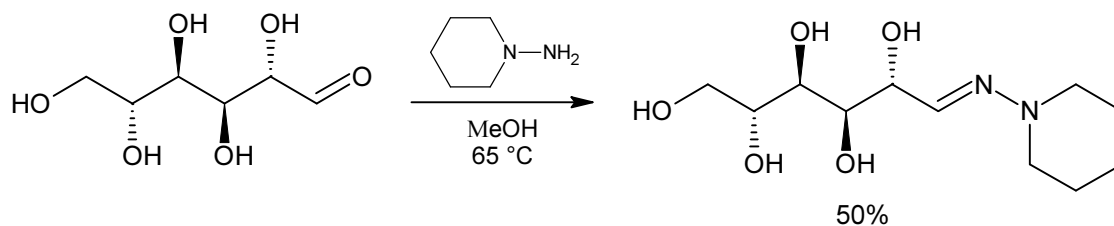
FTIR ν (cm^{-1}): 3259, 2946, 2933, 2872, 2844, 1608, 1443, 1393, 1379, 1336, 1314, 1265, 1205, 1083, 1061, 1028, 947, 897, 878, 861, 743, 640.

^1H NMR (700 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 6.48 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{N}$); 4,84 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H, OH); 4,49 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, OH); 4,41 (m, 1H, OH); 4,19 (dd, $J = 7,6; 5,7$ Hz, 2H, OH); 3,96 (dt, $J = 8,5; 5,8$ Hz, 1H, $\text{CH}-2$); 3,62 (m, 2H, CH); 3,55 (m, 1H, CH); 3,47 (m, 1H, CH); 3,39 (m, 1H, CH); 3,05 (m, 4H, NCH_2); 1,81 (m, 4H, NCH_2CH_2).

^{13}C TMR (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 138,09 ($\text{C}=\text{N}$); 71,31 ($\text{C}-3$); 71,15 ($\text{C}-5$); 71,03 ($\text{C}-2$); 69,77 ($\text{C}-4$); 63,74 ($\text{C}-6$); 50,64 (NCH_2); 22,62 (NCH_2CH_2).

HRMS (ESI): $[\text{M}+\text{H}^+]$: arvutatud 249,14450 Da, määratud 249,14402 Da.

D-mannoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooni süntees



Joonis 31.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 10 ml ümarkolbi mõõdeti 4 ml metanooli ja lahustati selles 200 mg *N*-aminopiperidiini (2 mmol). Lahusele lisati 240 mg D-mannoosi (1,33 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 2 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminopiperidiini liia kõrvaldamiseks 3 korda 3 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine segus MTBE/EtOH 2:1. Välja kristallunud aine filtreeriti, pesti 2 korda MTBE-ga ning kuivatati. Produktina saadi 175 mg (0,67 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus D-mannoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooniks. Saagis **50%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

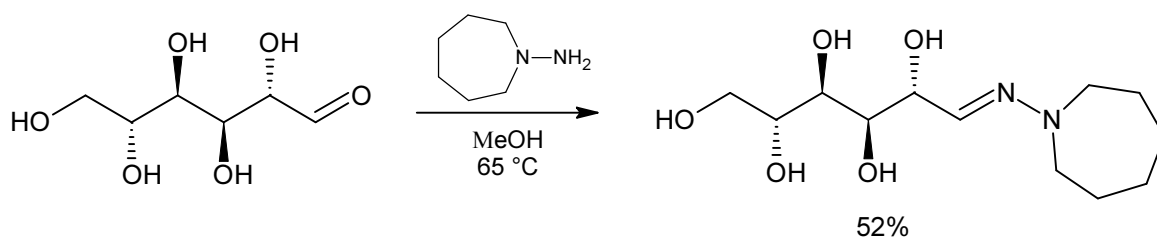
FTIR ν (cm⁻¹): 3371, 3294, 2944, 2856, 2819, 1612, 1445, 1401, 1369, 1312, 1264, 1242, 1199, 1081, 1035, 1003, 948, 893, 858, 737, 638.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,83 (d, J = 6,0 Hz, 1H, CH=N); 4,83 (d, J = 5,2 Hz, 1H, OH); 4,44 (d, J = 5,6 Hz, 1H, OH); 4,34 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,17 (dd, J = 7,5; 1,4 Hz, 2H, OH); 3,97 (dt, J = 8,5; 5,6 Hz, 1H, CH-2); 3,60 (m, 2H, CH); 3,54 (m, 1H, CH); 3,45 (m, 1H, CH); 3,37 (m, 1H, CH); 2,87 (m, 4H, NCH₂); 1,59 (quint, J = 5,6 Hz, 4H, NCH₂CH₂); 1,42 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 139,64 (C=N); 71,25 (C-3); 71,17 (C-5); 71,00 (C-2); 69,74 (C-4); 63,74 (C-6); 51,59 (NCH₂); 24,54 (NCH₂CH₂); 23,70 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 263,16015 Da, määratud 263,15990 Da.

D-mannoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni süntees



Joonis 32.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lahustati selles 274 mg *N*-aminoasepaani (2,4 mmol). Saadud lahusele lisati 288 mg D-mannoosi (1,6 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1 tunni ja 30 minuti möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminoasepaani liia kõrvaldamiseks 3 korda 4 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine segus MTBE/EtOH 3:1. Sadestunud aine filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 232 mg (0,84 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus D-mannoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooniks. Saagis **52%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

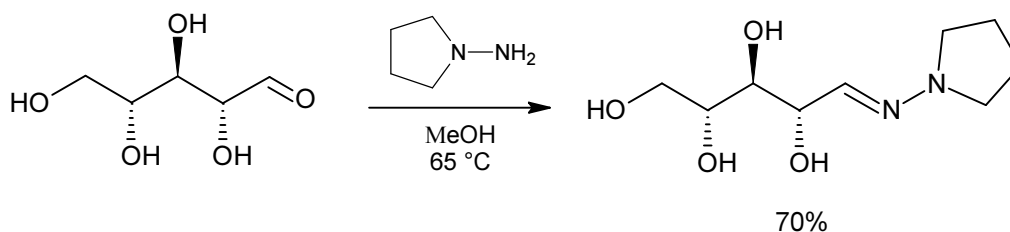
FTIR ν (cm⁻¹): 3396, 3326, 2922, 2856, 1594, 1468, 1437, 1385, 1354, 1318, 1233, 1190, 1132, 1083, 1054, 1029, 1016, 952, 922, 896, 850, 743, 719, 677, 636.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,38 (d, J = 6,1 Hz, 1H, CH=N); 4,71 (d, J = 5,1 Hz, 1H, OH); 4,43 (d, J = 5,6 Hz, 1H, OH); 4,33 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,14 (d, J = 7,5 Hz, 1H, OH); 4,10 (d, J = 7,3 Hz, 1H, OH); 3,97 (dt, J = 8,4; 6,1 Hz, 1H, CH-2); 3,61 (m, 1H, CH); 3,58 (m, 1H, CH); 3,55 (m, 1H, CH); 3,46 (m, 1H, CH); 3,38 (m, 1H, CH); 3,27 (m, 4H, NCH₂); 1,64 (m, 4H, NCH₂CH₂); 1,49 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (175 MHz, DMSO-*d*₆) δ 132,19 (C=N); 71,36 (C-3); 71,29 (C-5); 71,28 (C-2); 69,83 (C-4); 63,90 (C-6); 52,63 (NCH₂); 27,89 (NCH₂CH₂); 26,88 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 277,17580 Da, määratud 277,1749 Da.

D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni süntees



Joonis 33.

10 ml ümarkolbi, mis oli varustatud magnetsegaja pulga ning püstjahutiga, mõõdeti 4 ml metanooli ja lahustati selles 172 mg *N*-aminopürrolidiini (2 mmol). Lahusele lisati 200 mg D-riboosi (1,33 mmol). Segu kuumutati 65 °C juures, jälgides reaktsiooni TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1,5 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati segust rotaatoraurusti abil ning aurustusjääki tritureeriti 3 korda 3 ml Et₂O-ga, 3 korda 3 ml Et₂O/EtOH 3:1 seguga ja 3 korda 3 ml DCM-iga. Moodustunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda DCM-iga ning kuivatati vaakumis 24 tunni vältel. Produktina saadi 203 mg (0,93 mmol) D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni kollakate kristallide kujul. Saagis **70%**.

Saadus identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

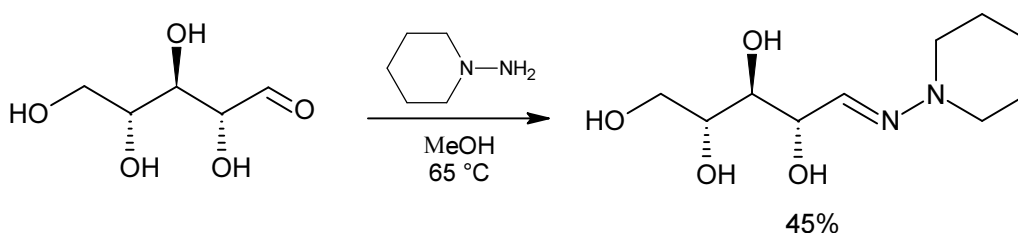
FTIR ν (cm⁻¹): 3362, 3280, 2966, 2926, 2868, 2816, 1595, 1456, 1407, 1342, 1305, 1266, 1230, 1132, 1066, 1046, 1030, 967, 904, 872, 679, 661.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,46 (d, J = 6,5 Hz, 1H, CH=N); 4,84 (d, J = 5,0 Hz, 1H, OH); 4,63 (d, J = 5,3 Hz, 1H, OH); 4,50 (d, J = 4,9 Hz, 1H, OH); 4,33 (t, J = 5,6 Hz, 1H, OH); 4,08 (dt, J = 6,5; 4,7 Hz, 1H, CH-2); 3,56 (ddd, J = 10,8; 5,4; 2,8 Hz, 1H, CH-5); 3,44 (m, 1H, CH-3); 3,39 (m, 2H, CH-4, CH-5'); 3,05 (m, 4H, NCH₂); 1,80 (m, 4H, NCH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 136,74 (C=N); 74,36 (C-3); 72,32 (C-4); 72,20 (C-2); 63,17 (C-5); 50,60 (NCH₂); 22,59 (NCH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 219,13393 Da, määratud 219,13344 Da.

D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooni süntees



Joonis 34.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 10 ml ümarkolbi mõõdeti 3 ml metanooli ja lisati sellele 133 mg *N*-aminopiperidiini (1,33 mmol). Lahusele lisati 150 mg D-riboosi (1 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1 tunni ja 50 minuti möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminopiperidiini liia kõrvaldamiseks 3 korda 3 ml Et₂O-ga. Pärast seda teostati ümberkristallimine segus Et₂O/EtOH 3:1. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 105 mg (0,45 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooniks. Saagis **45%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

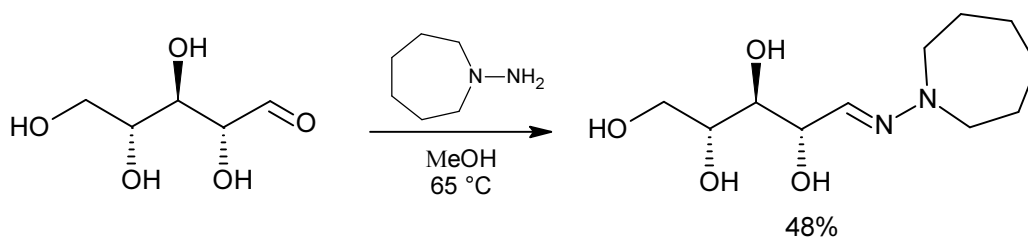
FTIR ν (cm⁻¹): 3371, 3285, 2931, 2852, 2802, 1608, 1444, 1410, 1377, 1304, 1272, 1239, 1077, 1064, 1046, 1035, 991, 967, 876, 859, 770, 673, 652, 626.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,82 (d, J = 6,2 Hz, 1H, CH=N); 4,88 (d, J = 5,0 Hz, 1H, OH); 4,65 (d, J = 5,3 Hz, 1H, OH); 4,49 (d, J = 5,1 Hz, 1H, OH); 4,33 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,11 (dt, J = 6,2; 4,8 Hz, 1H, CH-2); 3,56 (ddd, J = 10,9; 5,7; 3,0 Hz, 1H, CH-5); 3,45 (m, 1H, CH-3); 3,41 (m, 1H, CH-4); 3,37 (m, 1H, CH-5'); 2,87 (m, 4H, NCH₂); 1,59 (quint, J = 5,7 Hz, 4H, NCH₂CH₂); 1,43 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 138,50 (C=N); 74,41 (C-3); 72,36 (C-4); 72,13 (C-2); 63,16 (C-5); 51,56 (NCH₂); 24,52 (NCH₂CH₂); 23,69 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 233,14958 Da, määratud 233,14937 Da.

D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni süntees



Joonis 35.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lahustati selles 274 mg *N*-aminoasepaani (2,4 mmol). Saadud lahusele lisati 240 mg D-riboosi (1,6 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1 tunni ja 30 minuti möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminoasepaani liia kõrvaldamiseks 3 korda 4 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine segus MTBE/EtOH 5:1. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda MTBE-ga ning kuivatati. Produktina saadi 191 mg (0,78 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasooniks. Saagis **48%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

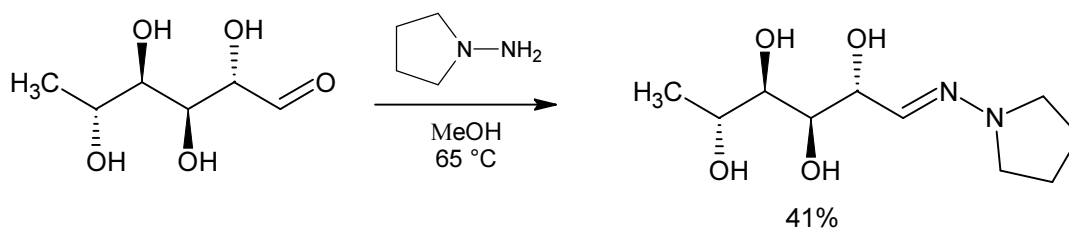
FTIR ν (cm⁻¹): 3432, 3261, 2918, 2852, 1589, 1423, 1391, 1357, 1328, 1276, 1232, 1116, 1090, 1057, 1037, 999, 988, 968, 956, 920, 891, 876, 816, 798, 750, 727, 666.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,37 (d, J = 6,4 Hz, 1H, CH=N); 4,75 (d, J = 4,9 Hz, 1H, OH); 4,56 (d, J = 5,0 Hz, 1H, OH); 4,46 (d, J = 4,7 Hz, 1H, OH); 4,31 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,08 (dt, J = 6,4; 4,6 Hz, 1H, CH-2); 3,56 (ddd, J = 10,8; 5,6; 2,7 Hz, 1H, CH-5); 3,42 (m, 2H, CH-3, CH-4); 3,38 (m, 1H, CH-5'); 3,26 (m, 4H, NCH₂); 1,63 (m, 4H, NCH₂CH₂); 1,49 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 130,68 (C=N); 74,53 (C-3); 72,57 (C-4); 72,34 (C-2); 63,22 (C-5); 52,46 (NCH₂); 27,68 (NCH₂CH₂); 26,69 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 247,16523 Da, määratud 247,1647 Da.

L-ramnoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni süntees



Joonis 36.

10 ml ümarkolbi, mis oli varustatud magnetsegaja pulga ning püstjahutiga, mõõdeti 4 ml metanooli ja lahustati selles 159 mg *N*-aminopürrolidiini (1,85 mmol). Lahusele lisati 225 mg L-ramnoosi monohüdraati (1,23 mmol). Segu kuumutati 65 °C juures, jälgides reaktsiooni TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 2 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati segust rotaatoraurusti abil ning aurustusjääki tritureeriti 3 korda 3 ml Et₂O-ga, misjärel teostati toorproduktile ümberkristallimine segus MTBE/EtOH 5:1. Sadenenud kristallid filtreeriti ning neid pesti 2 korda Et₂O-ga ja kuivatati filtril. Produktina saadi 116 mg (0,50 mmol) L-ramnoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni valgete kristallide kujul. Saagis **41%**.

Saadus identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

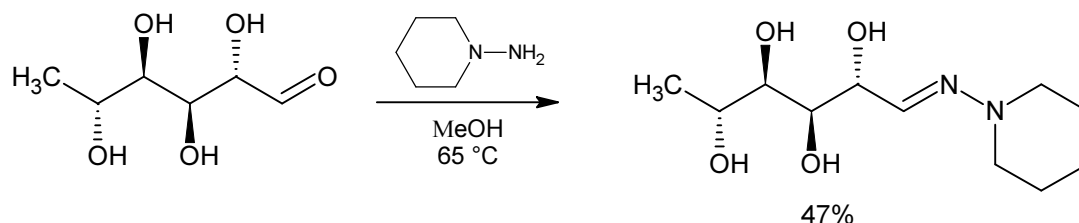
FTIR ν (cm⁻¹): 3420, 3266, 2958, 2917, 2819, 1610, 1454, 1349, 1332, 1288, 1219, 1122, 1101, 1058, 1023, 958, 896, 883, 845, 760, 673.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,47 (d, J = 6,3 Hz, 1H, CH=N); 4,80 (d, J = 5,2 Hz, 1H, OH); 4,42 (d, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,12 (d, J = 7,7 Hz, 1H, OH); 4,07 (d, J = 7,4 Hz, 1H, OH); 3,94 (td, J = 8,3; 6,3 Hz, 1H, CH-2); 3,61 (td, J = 8,5; 1,5 Hz, 1H, CH-3); 3,57 (dq, J = 8,1; 6,2 Hz, 1H, CH-5); 3,31 (td, J = 7,9; 1,5 Hz, 1H, CH-4); 3,05 (m, 4H, NCH₂); 1,81 (m, 4H, NCH₂CH₂); 1,10 (d, J = 6,3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 137,99 (C=N); 73,50 (C-4); 71,27 (C-3); 71,06 (C-2); 66,36 (C-5); 50,61 (NCH₂); 22,59 (NCH₂CH₂); 20,49 (CH₃).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 233,14958 Da, määratud 233,1487.

L-ramnoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooni süntees



Joonis 37.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 10 ml metanooli ja lisati sellele 450 mg *N*-aminopiperidiini (4,5 mmol). Lahusele lisati 546 mg L-ramnoosi monohüdraati (3 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 2 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminopiperidiini liia kõrvaldamiseks 3 korda 3 ml Et₂O-ga. Pärast seda teostati ümberkristallimine segus MTBE/EtOH 10:1. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda Et₂O-ga ning kuivatati. Produktina saadi 345 mg (1,40 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus L-ramnoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooniks. Saagis **47%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

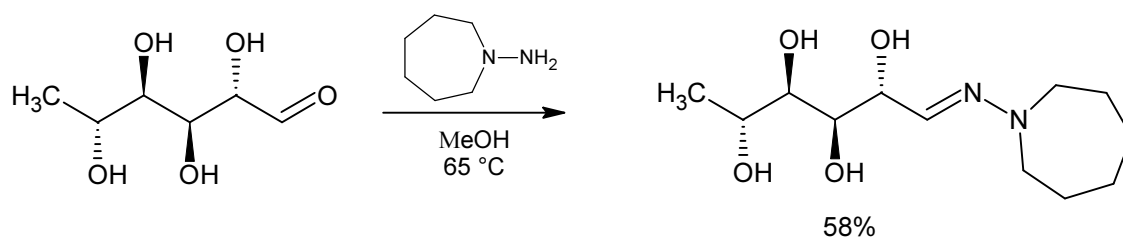
FTIR ν (cm⁻¹): 3408, 3280, 2938, 2860, 2803, 1618, 1442, 1361, 1324, 1294, 1215, 1150, 1124, 1082, 1056, 1041, 1023, 986, 903, 886, 861, 766, 688.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,83 (d, J = 6,0 Hz, 1H, CH=N); 4,84 (d, J = 5,2 Hz, 1H, OH); 4,42 (d, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,15 (d, J = 7,8 Hz, 1H, OH); 4,11 (d, J = 7,4 Hz, 1H, OH); 3,97 (td, J = 8,3; 6,0 Hz, 1H, CH-2); 3,62 (td, J = 8,6; 1,5 Hz, 1H, CH-3); 3,57 (dq, J = 8,2; 6,2 Hz, 1H, CH-5); 3,30 (td, J = 7,9; 1,5 Hz, 1H, CH-4); 2,88 (m, 4H, NCH₂); 1,59 (quint, J = 5,6 Hz, 4H, NCH₂CH₂); 1,43 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂); 1,11 (d, J = 6,3 Hz, 3H, CH₃).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 139,56 (C=N); 73,51 (C-4); 71,27 (C-3); 71,10 (C-2); 66,33 (C-5); 51,58 (NCH₂); 24,53 (NCH₂CH₂); 23,68 (NCH₂CH₂CH₂); 20,52 (CH₃).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 247,16523 Da, määratud 247,1646 Da.

L-ramnoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni süntees



Joonis 38.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lahustati selles 274 mg *N*-aminoasepaani (2,4 mmol). Saadud lahusele lisati 291 mg L-ramnoosi monohüdraati (1,6 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1 tunni ja 50 minuti möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminoasepaani liia kõrvaldamiseks 3 korda 4 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine MTBE-s. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda MTBE-ga ning kuivatati. Produktina saadi 240 mg (0,92 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus L-ramnoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooniks. Saagis **58%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

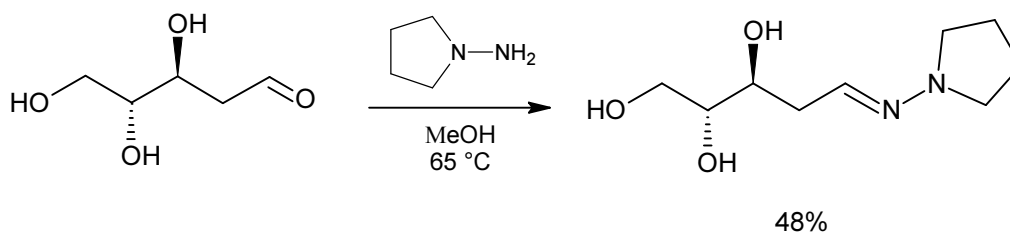
FTIR ν (cm⁻¹): 3420, 3300, 2922, 2852, 1595, 1448, 1438, 1387, 1359, 1288, 1266, 1234, 1120, 1076, 1046, 1025, 1001, 986, 968, 891, 860, 683.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,38 (d, J = 6,1 Hz, 1H, CH=N); 4,72 (d, J = 5,0 Hz, 1H, OH); 4,41 (d, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 4,11 (d, J = 7,5 Hz, 1H, OH); 4,03 (d, J = 7,3 Hz, 1H, OH); 3,95 (td, J = 8,1; 6,1 Hz, 1H, CH-2); 3,58 (m, 2H, CH-3, CH-5); 3,31 (td, J = 7,8; 1,5 Hz, 1H, CH-4); 3,27 (m, 4H, NCH₂), 1,64 (m, 4H, NCH₂CH₂); 1,49 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂); 1,10 (d, J = 6,4 Hz, 3H, CH₃).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 131,89 (C=N); 73,65 (C-4); 71,55 (C-3); 71,32 (C-2); 66,42 (C-5); 52,49 (NCH₂); 27,69 (NCH₂CH₂); 26,70 (NCH₂CH₂CH₂); 20,49 (CH₃).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 261,18088 Da, määratud 261,1802 Da.

2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni süntees



Joonis 39.

10 ml ümarkolbi, mis oli varustatud magnetsegaja pulga ning püstjahutiga, mõõdeti 3 ml metanooli ja lahustati selles 114 mg *N*-aminopürrolidiini (1,33 mmol). Lahusele lisati 134 mg 2-deoksü-D-riboosi (1 mmol). Segu kuumutati 65 °C juures, jälgides reaktsiooni TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati segust rotaatoraurusti abil ning aurustusjääki tritureeriti 3 korda 3 ml Et₂O-ga, misjärel teostati ümberkristallimine segus Et₂O/EtOH 5:1. Lahusest välja sadenenud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda MTBE-ga ning kuivatati filtril. Produktina saadi 97 mg (0,48 mmol) 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni kollakate kristallide kujul. Saagis **48%**.

Saadus identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

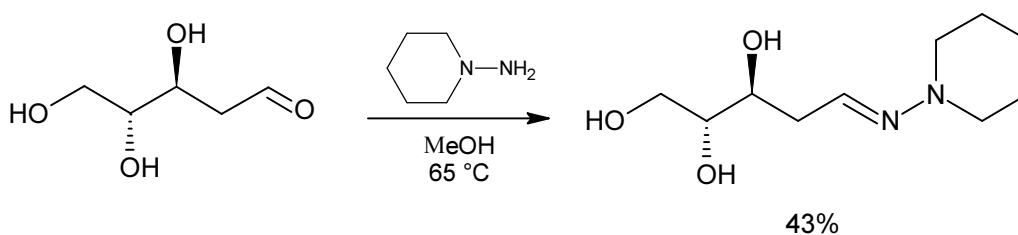
FTIR ν (cm⁻¹): 3424, 3269, 3172, 2954, 2890, 2856, 2836, 1611, 1466, 1446, 1413, 1389, 1342, 1263, 1227, 1112, 1084, 1066, 1036, 1006, 925, 906, 866, 758, 702, 672, 651.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,57 (t, J = 5,6 Hz, 1H, CH=N); 4,56 (d, J = 5,9 Hz, 1H, OH); 4,54 (d, J = 5,4 Hz, 1H, OH); 4,38 (t, J = 5,8 Hz, 1H, OH); 3,51 (m, 1H, CH-5); 3,46 (m, 1H, CH-4); 3,34 (m, 1H, CH-5'); 3,27 (m, 1H, CH-3); 2,99 (m, 4H, NCH₂); 2,40 (ddd, J = 14,5; 5,8; 3,4 Hz, 1H, CH-2); 2,16 (ddd, J = 14,3; 8,7; 5,3 Hz, 1H, CH-2'); 1,77 (m, 4H, NCH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 135,99 (C=N); 74,44 (C-4); 70,72 (C-3); 63,20 (C-5); 50,92 (NCH₂); 36,38 (C-2); 22,37 (NCH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 203,13902 Da, määratud 203,1386 Da.

2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooni süntees



Joonis 40.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lisati sellele 300 mg *N*-aminopiperidiini (3 mmol). Lahusele lisati 268 mg 2-deoksü-D-riboosi (2 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 1,5 tunni möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Metanool eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminopiperidiini liia kõrvaldamiseks 3 korda 3 ml Et₂O-ga. Aurustusjäägile teostati filterkromatograafia (eluent: EtOH/benseen 3:1 + 1% TEA). Produkti sisaldavad fraktsioonid ühendati, solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning saadust kuivatati täiendavalt vaakumis 24 h vältel. Produktina saadi 185 mg (0,86 mmol) valget tahket ainet, mis osutus 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooniks. Saagis **43%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

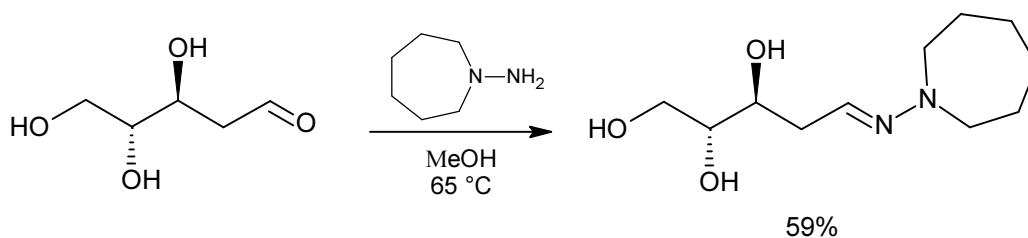
FTIR ν (cm⁻¹): 3372, 3221, 2930, 2852, 2803, 1605, 1451, 1410, 1360, 1318, 1272, 1193, 1152, 1118, 1082, 1067, 1038, 1023, 1000, 981, 936, 918, 889, 866, 851, 759, 633.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,92 (t, J = 5,5 Hz, 1H, CH=N); 4,59 (d, J = 5,9 Hz, 1H, OH); 4,56 (d, J = 5,3 Hz, 1H, OH); 4,40 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 3,50 (m, 2H, CH-4, CH-5); 3,34 (m, 1H, CH-5'); 3,28 (m, 1H, CH-3); 2,81 (m, 4H, NCH₂); 2,42 (ddd, J = 14,5; 5,7; 3,5 Hz, 1H, CH-2); 2,18 (ddd, J = 14,3; 8,7; 5,2 Hz, 1H, CH-2'); 1,57 (quint, J = 5,8 Hz, 4H, NCH₂CH₂); 1,40 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 137,73 (C=N); 74,47 (C-4); 70,54 (C-3); 63,19 (C-5); 51,98 (NCH₂); 36,51 (C-2); 24,66 (NCH₂CH₂); 23,75 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 217,15467 Da, määratud 217,1542 Da.

2-deoksü-D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni süntees



Joonis 41.

Püstjahuti ja magnetsegaja pulgaga varustatud 25 ml ümarkolbi mõõdeti 6 ml metanooli ja lahustati selles 280 mg *N*-aminoasepaani (2,46 mmol). Saadud lahusele lisati 220 mg 2-deoksü-D-riboosi (1,64 mmol) ning segu kuumutati metanooli keemistemperatuuril. Reaktsiooni jälgiti TLC abil (eluent: EtOH/benseen 3:1). 40 minuti möödudes oli reaktsioon lõpuni kulgenud. Solvent eemaldati rotaatoraurustiga ning aurustusjääki tritureeriti *N*-aminoasepaani liia kõrvaldamiseks 3 korda 4 ml Et₂O-ga. Seejärel teostati ümberkristallimine MTBE-s. Sadestunud kristallid filtreeriti, pesti 2 korda MTBE-ga ning kuivatati. Produktina saadi 222 mg (0,96 mmol) valget kristalset ainet, mis osutus 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasooniks. Saagis **59%**.

Produkt identifitseeriti FTIR, ¹H ja ¹³C TMR ning HRMS spektritega:

FTIR ν (cm⁻¹): 3412, 3359, 3181, 2957, 2917, 2848, 2807, 1593, 1434, 1407, 1379, 1359, 1316, 1231, 1199, 1127, 1085, 1023, 1000, 982, 968, 889, 867, 841, 790, 711.

¹H TMR (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6,45 (t, J = 5,5 Hz, 1H, CH=N); 4,51 (d, J = 5,7 Hz, 2H, OH); 4,37 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH); 3,52 (m, 1H, CH-5); 3,45 (m, 1H, CH-4); 3,35 (m, 1H, CH-5'); 3,28 (m, 1H, CH-3); 3,23 (m, 4H, NCH₂); 2,40 (ddd, J = 14,5; 5,8; 3,5 Hz, 1H, CH-2); 2,16 (ddd, J = 14,2; 8,6; 5,1 Hz, 1H, CH-2'); 1,62 (m, 4H, NCH₂CH₂); 1,48 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂).

¹³C TMR (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 129,27 (C=N); 74,47 (C-4); 71,07 (C-3); 63,24 (C-5); 52,57 (NCH₂); 36,48 (C-2); 27,67 (NCH₂CH₂); 26,70 (NCH₂CH₂CH₂).

HRMS (ESI): [M+H⁺]: arvutatud 231,17032 Da, määratud 231,1698 Da.

TULEMUSED JA ARUTELU

Heterotsükliiliste hüdrasiinide süntees

N-aminopürrolidiini sünteesi optimeerimine

Esmaseks *N*-aminopürrolidiini sünteesiks kasutati kirjandusest leitud metoodikat, milles keevale hüdrasiinhüdraadi (1,2 ekv) lahusele metanoolis lisati tilkhaaval 1,4-dibromobutaani (1 ekv) ja NaOH lahust, millega hoiti pH vahemikus 8 kuni 11 [27]. Pärast reaktsiooni läbiviimist teostati segule ekstraktsioon ning fraktsioneeriv destillatsioon. Läbi viidud protseduuride tulemusena saadi *N*-aminopürrolidiini 7,3% saagisega.

Kuna nimetatud metoodika andis madala saagise, otsustati protsessi optimeerida. Kasutusele võeti suur hüdrasiinhüdraadi ülehulk (3 ekv), mille abil on võimalik vähendada kõrvalprodukti *N,N'*-bipürrolidiini teket. Ühtlasi pole suure hüdrasiinhüdraadi liia korral tarvidust kasutada reaktsiooni käigus tekkiva vesinikbromiidi sidumiseks naatriumhüdrosiidi. Sellega kõrvaldatakse alkoholide tekke oht dihalogeniidist S_N2 asendusreaktsiooniga ja samuti elimineerimisreaktsioonid.

Eelnimetatud modifitseeritud tingimustel viidi läbi korduskatse. Pärast ekstraktsiooni ja destillatsiooni saavutati rahuldav, 38% saagis. Metoodikat oleks võimalik täiendavalt optimeerida, kui kasutada veelgi suuremat hüdrasiinhüdraadi üle hulka ning ekstraheerida *N*-aminopürrolidiini efektiivsemalt vesifaasist orgaanilisse faasi.

N-aminopiperidiini sünteesi optimeerimine

N-aminopiperidiini esmaseks sünteesiks kasutati analoogset metoodikat nagu oli kirjandusest leitud *N*-aminopürrolidiini valmistamiseks [27], kuid dihalogeniidina kasutati 1,5-dibromopentaani. Läbi viidud eksperimendi käigus saadi *N*-aminopiperidiini vaid 2,5% saagisega.

Sünteesi läbi viies ilmnes, et *N*-aminopiperidiin laguneb destillatsiooni käigus. Seega otsustati produkti mitte destilleerida ja piirduda vaid ekstraheerimisega. Metoodika muutmine suurendas saagist oluliselt (27%). Lisaks *N*-aminopiperidiinile sisaldas produkt vähesel määral solvente (1H TMR järgi 4,1% MeOH ja 3,8% Et₂O), kuid kuna need lisandid ei sega hüdrasoonide sünteesi, oli see aktsepteeritav.

Selleks, et tõsta täiendavalt *N*-aminopiperidiini sünteesi saagist, otsustati katsetada sarnast võtet nagu *N*-aminopürrolidiini sünteesi optimeerimisel – kasutusele võeti suur hüdrasiinhüdraadi liig ning ei kasutatud leelise lahust reaktsioonil tekkiva HBr sidumiseks. Antud muudatused suurendasid *N*-aminopiperidiini saagise 61%-ni (sellest ¹H TMR järgi 1,5% MeOH ja 1,4% Et₂O). Nagu ka *N*-aminopürrolidiini sünteesi puhul, oleks ka siin võimalik saagist tõsta, kui kasutada veelgi suuremat hüdrasiinhüdraadi ülehulka ning täiendada ekstraktsiooniprotsessi.

***N*-aminoasepaani sünteesi optimeerimine**

Esmaseks *N*-aminoasepaani sünteesiks kasutati sarnast metoodikat nagu oli kirjandusest leitud *N*-aminopürrolidiini sünteesiks [27]. Dihalogeniidina kasutati 1,6-dibromoheksaani ja selle suhtes võeti kaks ekvivalenti hüdrasiinhüdraati. Sünteesi käigus tekkis produktina peamiselt tundmatu struktuuriga polümeerne valge aine, mis ei lahustunud üheski proovitud solventidest (vesi, metanool, atsetoon, kloroform, dikloroetaan, DMSO, hapestatud vesi, hapestatud isopropüülalkohol). Materjali elementkoostist uuriti SEM-iga kasutades energiadiispersiivset röntgenkiirguse detektorit (EDX). Kahe erineva punkti elementkoostised aatomprotsentides olid: 44,52% C, 13,29% N, 42,19% O ja 37,60% C, 16,72% N, 45,34% O, 0,34% Al. Info suure hajususe ja vähesuse tõttu on raske spekuloida, milline võiks olla polümeeri struktuur. Arvestades kasutatud lähteaineid, sisaldab see suure tõenäosusega nii hüdrasiino- kui ka heksametüleen-fragmenti. Suur hapniku sisaldus antud aines on aga raskesti seletatav ja seega vajab see ühend täiendavat uurimist. Polümeerse materjali eraldamise käigus saadud filtraadi kontsentreerimisel ja ekstraheerimisel saadi 1,6% *N*-aminoasepaani.

Kuna esialgse eksperimendi käigus saadi *N*-aminoasepaani vaid kõrvalproduktina, viidi läbi sarnane sünteesi optimeerimine nagu kahe eelneva hüdrasiini derivaadi puhul. Kasutusele võeti suurem hüdrasiinhüdraadi ülehulk ning loobuti leelise kasutamisest. Lisaks suurendati lahusti ruumala, et vähendada võimaliku kõrvalreaktsiooni osakaalu (intermediaadina moodustuva (6-bromoheksüül)hüdrasiini reageerimist hüdrasiiniga). Tehtud muudatused suurendasid oluliselt *N*-aminoasepaani saagist (31%) ning ühtlasi ei tekkinud reaktsioonisegusse lahustumatuid aineid.

N-aminoasepaani sünteesi, lähtudes hüdrasiinhüdraadist ja dihalogeniidist, pole teadaolevalt kirjanduses seni mainitud. Nagu ka eelnevate heterotsükiliste hüdrasiinide valmistamise puhul, saab ka *N*-aminoasepaani sünteesi täiendavalt optimeerida. Selleks

tuleks suurendada kasutatavat hüdrasiinhüdraadi ülehulka ning modifitseerida ekstraktsiooniprotsessi.

Sahhariidi hüdrasoonide süntees

Sahhariidi hüdrasoonide valmistamiseks kasutati hüdrasiini derivaatidena kolme sünteesitud heterotsüklilist hüdrasiini: *N*-aminopürrolidiini, *N*-aminopiperidiini ja *N*-aminoasepaani. Suhkrutena võeti kasutusele kuus erinevat aldoosi. Lisaks H. Stroh'i ja H. Scharnow'i katsetes edukalt tarvitatud L-arabinoosile, D-galaktoosile, D-mannoosile ja L-ramnoosile [18], viidi eksperimentid läbi ka D-riboosi ja 2-deoksü-D-riboosiga. Viimase kahe sahhariidi kasutamiseks andis põhjuse nende leidumine vastavalt RNA-s ja DNA-s.

Antud uurimustöö keskmes olevate sahhariidi hüdrasoonide sünteesiks kasutati samasugust meetodikat, nagu oli kirjanduses mainitud sarnaste ühendite valmistamiseks [18]. Kõik kondensatsioonireaktsioonid viidi läbi 65 °C juures metanooli keskkonnas, reaktsiooniajad varieerusid 1-3 tunni vahel. TLC järgi kulgesid kõik reaktsioonid lõpuni, üldjuhul oli märgata vaid ühe produkti (hüdrasooni) teket, kuid mõne sünteesi puhul võis täheldada ka vähest kõrvalprodukti teket. Pärast reaktsiooni toimumist eemaldati solvent ning aurutusjääki tritureeriti heterotsüklilise lähtehüdrasiini ja kõrvalprodukti eemaldamiseks korduvalt dietüüleetriga. D-galaktoosi *N*-aminopürrolidiini sünteesi korral polnud lahusti eemaldamine ja tritureerimine vajalik, sest produkt sadenes reaktsioonisegu jahtumisel välja ning see eraldati filtreerimise teel. Tritureerimise järel kristalliti toorprodukt ümber sobivas lahustis. Esialgu kasutati selleks etüülatsetaati, kuid hilisemate eksperimentide käigus ilmnas, et paremaid tulemusi on võimalik saavutada, kui kasutada solvendina MTBE-d ja etanooli sobivas vahekorras. Ümberkristallitud saadused filtreeriti, pesti ning kuivatati.

D-riboosi *N*-aminopürrolidiini ning 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasooni sünteesi korral produktide ümberkristallimine ei õnnestunud, sest antud hüdrasoonid ei sadenenud lahusest välja. D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasooni puhastamiseks teostati toorproduktile põhjalik tritureerimine erinevate solventidega (Et₂O, Et₂O/EtOH 3:1, DCM). Seejärel kuivatati saadust vaakumis 24 h vältel. ¹H TMR spektri põhjal oli produkt valdavalt puhas, kuid märgata oli umbes 3% DCM-i lisandit. 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon puhastati filterkromatograafia abil. Selle protsessi käigus oli TLC järgi märgata vähest produkti lagunemist, kuid selle osakaal oli tühine, sest ¹H TMR spektrilt lisandile vastavaid piike leida ei õnnestunud.

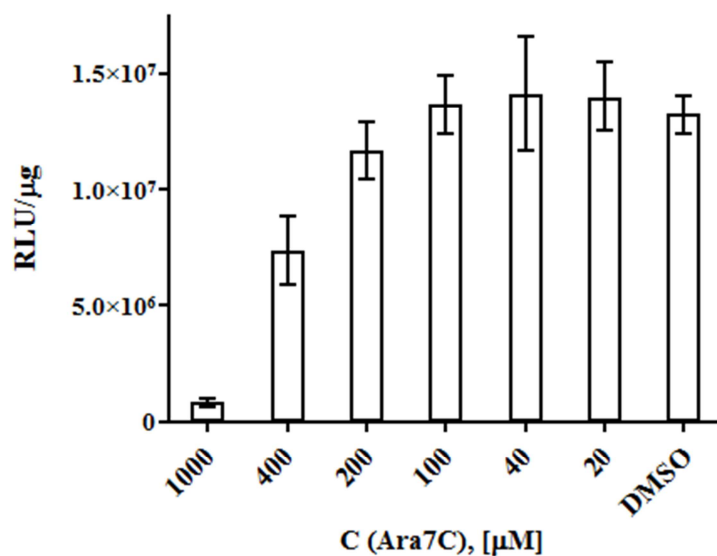
Kuna reaktsioonid kulgesid lõpuni ja valdavalt tekkis vaid üks produkt, võiks sünteesidelt eeldada praktiliselt kvantitatiivseid saagiseid. Tegelikkuses varieerusid eraldatud produktide saagised 36-70% vahel. Keskpäraseid saagiseid võib seletada kadudega, mis tekkisid ümberkristallimisel, tritureerimisel ning produktide ülekandmisel. Ideaalsest madalamate saagiste põhjusena võib nimetada ka reaktsioonidel kasutatud väikeseid ainekoguseid, mille tõttu võimenduvad eelpool nimetatud kaod.

Saagiste optimeerimiseks tuleks reaktsioonides kasutada suuremaid lähteainete koguseid, leida ideaalilähedased tingimused ümberkristallimiseks või nende puudumisel kasutada produkti puhastamiseks filter- või kolonnkromatograafiat. Samas peab arvestama, et kromatograafia pole sobilik meetod suurte ainekoguste puhastamiseks ning ühtlasi toimub happelisel silikageelil ka osaline produkti lagunemine. Antud uurimistöös viidi protsessi optimeerimine läbi vaid L-arabinoosi *N*-aminoasepaani sünteesiks: lähteainete hulka suurendati esialgsega võrreldes enam kui 4 korda ning ümberkristallimine viidi EtOAc asemel läbi segus MTBE/EtOH 1:1. Ainuüksi nende muutuste abil suurendati sünteesi saagist 36 protsendilt 85 protsendini.

Sahhariidi hüdrasoonide bioloogilise aktiivsuse uurimine

Valmistatud 18 ühendi bioloogilist aktiivsust uuriti erinevate katsete käigus. Sünteesitud hüdrasoonide bakteri- ja seenevastaseid omadusi uuris TÜ Mikrobioloogia Instituudi teadur Dr. Silver Türk. Katsed läbiviimiseks kasutati bakteriliike *Escherichia coli* ja *Staphylococcus aureus* ning seeneliiki *Candida albicans*. Paraku nende eksperimentide käigus ühelgi ühendil antibakteriaalseid ega –fungaalseid omadusi ei tuvastatud.

TÜ Tehnoloogiainstituudis, prof. Andres Meritsa töögrupis, uuriti sünteesitud ühendite HIV-vastaseid omadusi. Viiruslaadsete osakestega (VLP) läbi viidud katsete käigus selgus, et L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon omab mõõdukat ($IC_{50} \approx 400 \mu M$) viirusevastast aktiivsust (joonis 42). Samuti täheldati vähest ($IC_{50} > 1 \text{ mM}$) antiviraalset toimet 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni puhul. Teistel valmistatud ühenditel HI-viiruse vastast aktiivsust ei tuvastatud. Toksikoloogiatestist ilmnes, et kõik sünteesitud ühendid on 1 mM kontsentratsioonis imetaja rakkudele mittetoksilised.



Joonis 42. L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni (Ara7C) mõju HIV VLP-de vahendusel toodetava markervalgu ekspressioonile erinevatel kontsentratsioonidel. Rakud lüüsi 3 ööpäeva peale VLP-dega nakatamist. Markervalgu aktiivsus on normaliseeritud totaalse rakulise valgu sisaldusele proovides. Negatiivseks kontrolliks võeti DMSO, mis oli ühtlasi kasutusel ka lahustina.

Kuigi ükski sünteesitud ühend ei omanud kõrget bioloogilist aktiivsust, on siiski märkimisväärne ka L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasooni mõõdukas HIV-vastane toime. Selle molekuli struktuurielemente edaspidi modifitseerides on võimalik leida ühendeid, mille antiviraalsed omadused on tugevamad ja mis võivad osutada ka edukateks ravimikandidaatideks.

KOKKUVÕTE

Mitmed hüdrasino-fragmenti sisaldavad heterotsüklilised ühendid ning nende sahhariidi hüdrasoonid on kõrget bioloogilist aktiivsust omavad ained. Sellest lähtuvalt oli käesoleva uurimistöö eesmärgiks sünteesida *N*-aminopürrolidiinist, *N*-aminopiperidiinist ja *N*-aminoasepaanist uudseid hüdrasooni ning uurida nende bioloogilist toimet.

Töö käigus uuriti erinevaid sünteesiteid heterotsükliliste hüdrasiinide saamiseks. Enim tähelepanu pöörati selliste ühendite sünteesile lähtudes hüdrasiinhüdraadist ja sobivast dihalogeniidist. *N*-aminopiperidiini ja *N*-aminopürrolidiini sünteesil tegeleti protsessi optimeerimisega, saavutades kuni 61% saagiseid. *N*-aminoasepaani valmistamiseks loodi aga täiesti uus sünteesimetoodika, sest teadaolevalt pole sellist ühendit eelpool nimetatud lähteainetest varem tehtud.

Sünteesitud heterotsüklilisi hüdrasiine kasutati kondensatsioonireaktsioonides 6 erineva monosahhariidiga, saades produktidena kokku 18 uutset sahhariidi hüdrasooni. Saadud ühenditele teostati põhjalik struktuuranalüüs (FTIR, ^1H ja ^{13}C TMR, HRMS) ning uuriti nende toimet bakterite, seente ja HI-viiruse suhtes.

L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoonil avastati mõõdukas HIV-vastane mõju ($\text{IC}_{50} \approx 400 \text{ } \mu\text{M}$), ühtlasi avaldas vähest mõju HI-viiruse vastu ka 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon ($\text{IC}_{50} > 1 \text{ mM}$). Kuigi nende ühendite antiviraalne toime pole väga tugev, võib molekuli struktuuri modifitseerimise teel arendada neist sobivaid ravimikandidaate.

Uudsete sahhariidi hüdrasoonide sünteesi teemal jätkatakse ka järgnevas õppeastmes ning käesoleva uurimistöö materjalist on valmimas artikli käsikiri.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed. W.H. Freeman and Company, New York, 2005, pp 238-305.
2. Lazny, R.; Nodzevska, A. *N,N*-Dialkylhydrazones in Organic Synthesis. From Simple *N,N*-Dimethylhydrazones to Supported Chiral Auxiliaries. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1386-1434.
3. Shaban, M. A. E.; Taha, M. A. M.; Morgaan, A. E. A. Sterically Controlled Regiospecific Cyclization of Aldose-5-ethyl-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-ylhydrazones to Linearly Annelated 3-Polyhydroxyalkyl-10-ethyl-1,2,4-triazolo-[4',3':2,3]-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indoles. *Monatsh. Chem.* **2000**, *131*, 487-500.
4. Abdel-Aal, M. T.; El-Sayed, W. A.; El-Kosy, S. M.; El-Ashry, E. S. H. Synthesis and Antiviral Evaluation of Novel 5-(*N*-Aryl-aminomethyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)hydrazines and Their Sugars, 1,2,4-Triazoles, Tetrazoles, and Pyrazolyl Derivatives. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2008**, *341*, 307-313.
5. Mosselhi, M. A.; Abdallah, M. A.; Metwally, N. H.; El-Desoky, I. A.; Break, L. M. Synthesis, Structure and Antimicrobial Evaluation of New Derivatives of Theophylline Sugar Hydrazones. *ARKIVOC* **2009**, *14*, 53-63.
6. El-Barbary, A. A.; Hafiz, Y. A.; Abdel-Wahed, M. S. Glycosylation, Sugar Hydrazones, and Antimicrobial Evaluation of Some 6-substituted-1,2,4-triazines. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2010**, *29*, 55-71.
7. Rashad, A. E.; Hegab, M. I.; Abdel-Megeid, R. E.; Fathalla, N.; Abdel-Megeid, F. M. E. Synthesis and Anti-HSV-1 Evaluation of Some Pyrazoles and Fused Pyrazolopyrimidines. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3285-3292.
8. Job, A.; Janeck, C. F.; Bettray, W.; Peters, R.; Enders, D. The SAMP/RAMP-hydrazone Methodology in Assymetric Synthesis. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2253–2329.
9. Evans, D. A.; Polniaszek, R. P.; DeVries, K. M.; Guinn, D. E.; Mathre, D. J. Synthetic Studies in the Lysocellin Family of Polyether Antibiotics. The Total Synthesis of Ferensimycin B. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7613–7630.
10. Barrett, I. C.; Kerr, M. A. A „One-pot“ Procedure for the Oxidative Conversion of Alkyl Halides and Tosylates to *N,N*-dimethylhydrazones. *Synlett* **2000**, 1673–1675.
11. Banerjee, S.; Shi, Y.; Cao, C.; Odom, A. L. Titanium-Catalysed Iminohydrazination of Alkynes. *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 5066-5077.

12. Gmouh, S.; Jamal-Eddine, J.; Valnot, J. Y. Sterically Hindered Ketiminium Salts: a New Generation Phase-Transfer Catalysts. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8361-8366.
13. Enders, D.; Wortmann, L.; Peters, R. Recovery of Carbonyl Compounds from *N,N*-Dialkylhydrazones. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 157-169.
14. Enders, D.; Eichenauer, H. Asymmetric Synthesis of Ant Alarm Pheromones – α -alkylation of Acyclic Ketones with Practically Complete Asymmetric Induction. *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 425–427.
15. Enders, D.; Schusseler, T. First Asymmetric Synthesis of 6-methyl-3-nonanone, the Female Produced Sex Pheromone of the Caddisfly *Hesperophylax occidentalis*. *New J. Chem.* **2000**, *24*, 973–975.
16. Ludwig, J. W.; Newcomb, M.; Bergbreiter, D. E. Kinetic Formation and Equilibration of Isomeric Ketone Dimethylhydrazone Lithio Anions. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4666–4669.
17. Stroh, H. H.; Arnold, A.; Scharnow, H. G. Condensation of Carbonyl Compounds with Hydrazines. XII. Reaction Products from Hydrazine and Sugars. *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 1404-1410.
18. Stroh, H. H.; Scharnow, H. G. Condensation of Carbonyl Compounds with Hydrazines. XIII. Reaction of Alkyl- and Aralkylhydrazines with Saccharides. *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 1588-1597.
19. Most, D.; Rossen, K. Process for the Preparation of 1-aminopiperidine Derivatives. WO2006/094920A2, **2006**.
20. Černuchová, P.; Vo-Thanh, G.; Milata, V.; Loupy, A.; Jantová, S.; Theiszová, M. Utilization of 2-ethoxymethylene-3-oxobutanenitrile in the Synthesis of Heterocycles Possessing Biological Activity. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 5379-5387.
21. Ansari, K. F.; Lal, C. Synthesis and Biological Activity of Some Heterocyclic Compounds Containing Benzimidazole and Beta-lactam Moiety. *J. Chem. Sci.* **2009**, *121*, 1017-1025.
22. Havaladar, F. H.; Patil, A. R. Syntheses of 1,2,4 Triazole Derivatives and Their Biological Activity. *E-J. Chem.* **2008**, *5*, 347-354.
23. Lunn, G.; Sansone, E. B.; Keefer, L. K. Reduction of Nitrosamines with Aqueous Titanium Trichloride: Convenient Preparation of Aliphatic Hydrazines. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3470-3473.
24. Latourette, H. K.; Pennington, N. J.; Pianfetti, J. A.; Charleston, W. V. Chemical Reduction of Nitrosamines. US 3317607, **1967**.

25. Ghorbani-Choghamarani, A.; Goudarziafshar, H.; Rezaee, S.; Mortazavi, S. S. Chemoselective *N*-nitrosation of Secondary Amines Under Heterogeneous and Mild Conditions via *in situ* Generation of HNO₂. *Chin. Chem. Lett.* **2009**, *20*, 415-419.
26. Kawano, M.; Shimizu, K.; Isonaga, E.; Kurata, S. Process for Producing *N*-aminohexamethyleneimine. EP0249452A1, **1987**.
27. Maekawa, T.; Tomotaki, Y.; Ishikawa, K.; Nabeshima, A.; Furuichi, T. Process for the Preparation of 1-aminopyrrolidine. EP0894788A1, **1999**.
28. Levanova, E. P.; Grabel'nykh, V. A.; Elaev, A. V.; Russavskaya, N. V.; Klyba, L. V.; Albanov, A. I.; Korchevin, N. A. Novel Route to the Synthesis of Chalcogenolanes, Chalcogenanes, and 1,2-dichalcogenaepanes. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2012**, *47*, 1345-1352.
29. Lebedev, O.; Bredihhin, A.; Tšupova, S.; Mäeorg, U. The Use of Polyanions of Hydrazines in the Synthesis of Heterocycles. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 5438-5442.
30. Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's protective groups in organic synthesis*, 4th edition. Wiley-Interscience, 2007, p. 728.
31. Bredihhin, A.; Mäeorg, U. Use of Polyanions for Alkylation of Hydrazine Derivatives. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4975-4977.
32. Bredihhin, A.; Mäeorg, U. Effective Strategy for the Systematic Synthesis of Hydrazine Derivatives. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6788-6793.
33. Tšupova, S.; Lebedev, O.; Mäeorg, U. Combination of Hydrazine Polyanion Strategy and Ring-closing Metathesis in the Synthesis of Heterocycles. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 1011-1016.
34. www.sigmaaldrich.com, viimati alla laetud 12.05.2014.
35. www.lach-ner.com, viimati alla laetud 12.05.2014.
36. www.acros.com, viimati alla laetud 12.05.2014.
37. Weast, R. C. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 52nd ed.; The Chemical Rubber Company, 1971, p. C-121.

SYNTHESIS OF NOVEL SACCHARIDE HYDRAZONES

Mihkel Ilisson

SUMMARY

Many heterocyclic compounds and their saccharide derivatives which contain a hydrazine fragment are known as biologically active substances. Therefore, the aim of current research was to synthesize novel hydrazones derived from *N*-aminopyrrolidine, *N*-aminopiperidine and *N*-aminoazepane and to investigate their biological properties.

During the research, different synthetic pathways for producing heterocyclic hydrazines were examined. Most attention was paid on the synthesis of these compounds, using hydrazine hydrate and suitable dihalogenide as a starting material. Synthesis of *N*-aminopyrrolidine and *N*-aminopiperidine were optimized, reaching up to 61% yields. A new method was created for the synthesis of *N*-aminoazepane as it has not been produced from hydrazine hydrate and dihalogenide earlier.

18 novel saccharide hydrazones were gained as products when synthesized heterocyclic hydrazines were used in condensation reactions with 6 different monosaccharides. A thorough structure analysis (FTIR, ^1H and ^{13}C NMR, HRMS) was done on these novel compounds. Also, their activity against different bacteria, fungi and HI-virus were investigated.

L-arabinose *N*-aminoazepane hydrazone was found to have moderate anti-HIV activity ($\text{IC}_{50} \approx 400 \mu\text{M}$). Also, minor anti-HIV effect ($\text{IC}_{50} > 1 \text{ mM}$) was shown by 2-deoxy-D-ribose *N*-aminoazepane hydrazone. Although the antiviral effects of these compounds are not exceptionally high, it might be possible to turn them into better drug candidates with different structural modifications.

Synthesis of novel saccharide hydrazones will be continued in the PhD studies. Currently, there is an article manuscript in formation from this research material.

TÄNUAVALDUSED

Minu suurimad tänud lähevad Uno Mäeorule professionaalse juhendamise ning „magusa“ magistritöö teema eest. Tänan ka Silver Türki ja Andres Meritsat bioloogiliste katsete läbiviimise eest ning Jörgen Metsikut SEM-iga polümeeri uurimise eest.

Suur aitäh läheb ka mu perele, kes minu käekäigu vastu pidevalt huvi tunnevad ning kes on minu õpinguid aastate jooksul järjekindlalt toetanud.

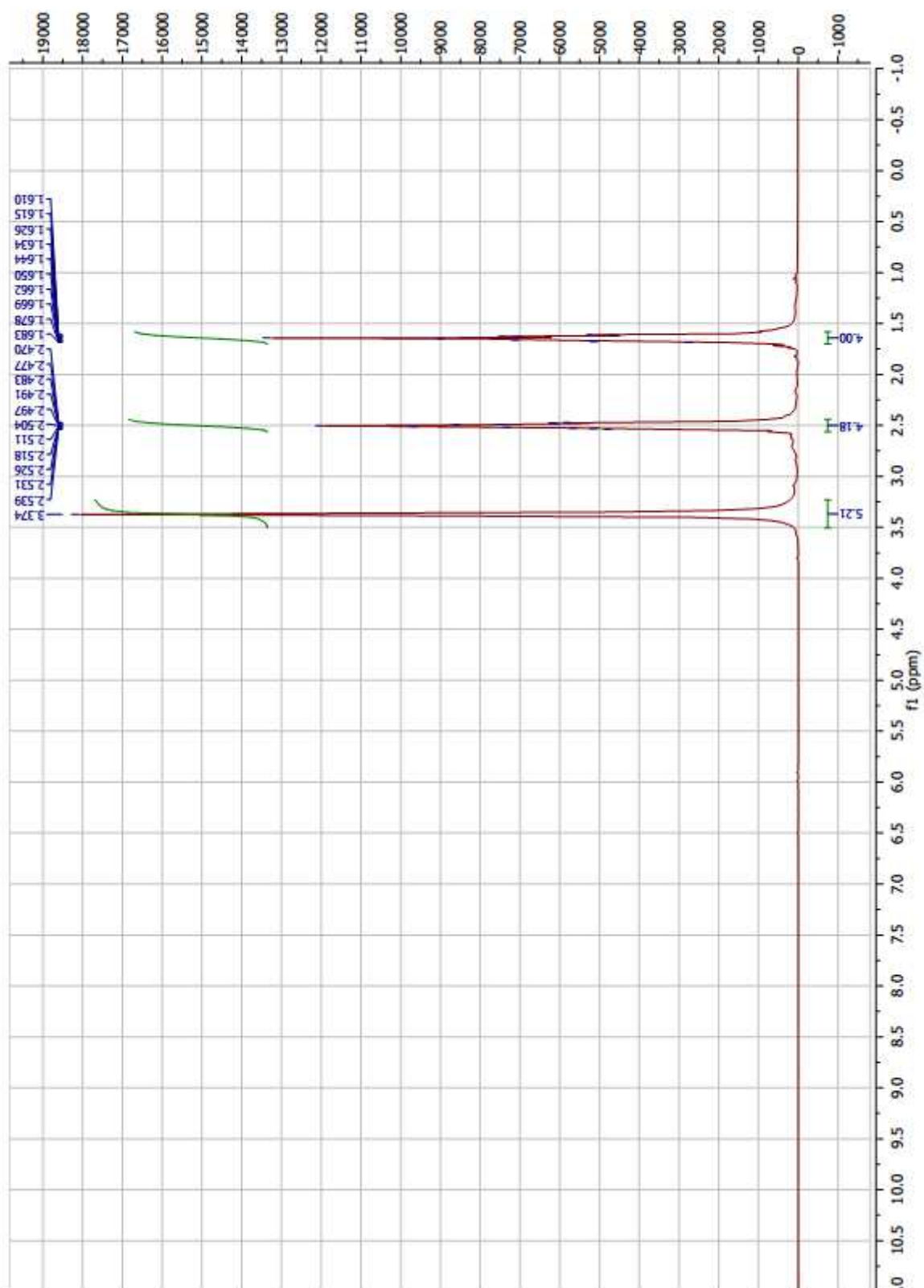
Eriline tänu kuulub Annile, kellega on kodus hea nii teaduslikku kui ka mitteteaduslikku juttu puhuda.

LISAD

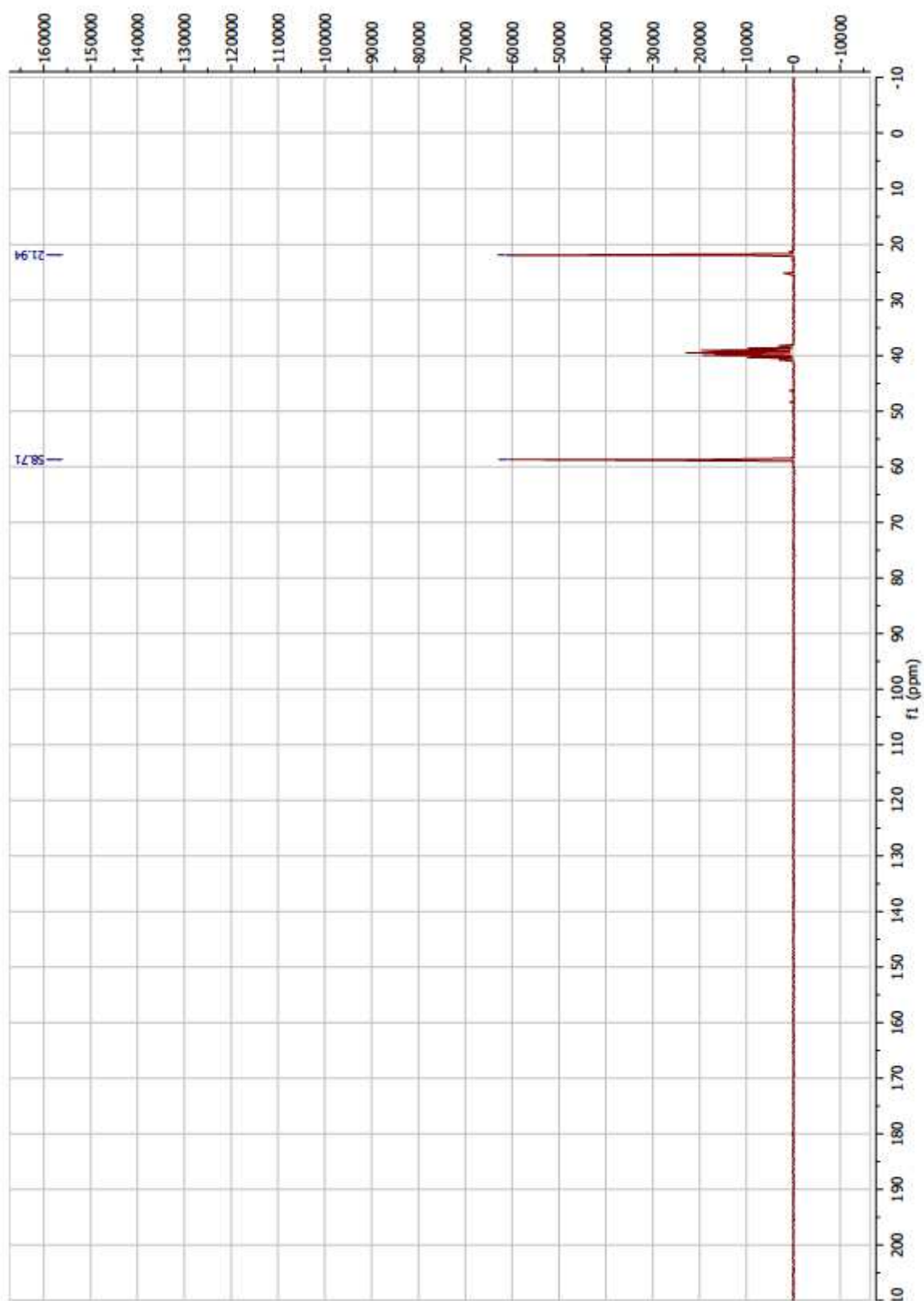
1. *N*-aminopürrolidiin, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 200 MHz.
2. *N*-aminopürrolidiin, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz.
3. *N*-aminopiperidiin, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 200 MHz.
4. *N*-aminopiperidiin, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz.
5. *N*-aminoasepaan, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 200 MHz.
6. *N*-aminoasepaan, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz.
7. L-arabinoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
8. L-arabinoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
9. L-arabinoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
10. L-arabinoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
11. L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
12. L-arabinoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
13. D-galaktoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
14. D-galaktoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
15. D-galaktoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
16. D-galaktoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
17. D-galaktoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
18. D-galaktoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
19. D-mannoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
20. D-mannoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
21. D-mannoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
22. D-mannoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
23. D-mannoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
24. D-mannoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 175 MHz
25. D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
26. D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
27. D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
28. D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
29. D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
30. D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
31. L-ramnoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
32. L-ramnoosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz

- 33. L-ramnoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
- 34. L-ramnoosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
- 35. L-ramnoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
- 36. L-ramnoosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
- 37. 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
- 38. 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopürrolidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
- 39. 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
- 40. 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminopiperidiini hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz
- 41. 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^1H TMR, DMSO- d_6 , 700 MHz
- 42. 2-deoksü-D-riboosi *N*-aminoasepaani hüdrasoon, ^{13}C TMR, DMSO- d_6 , 50 MHz

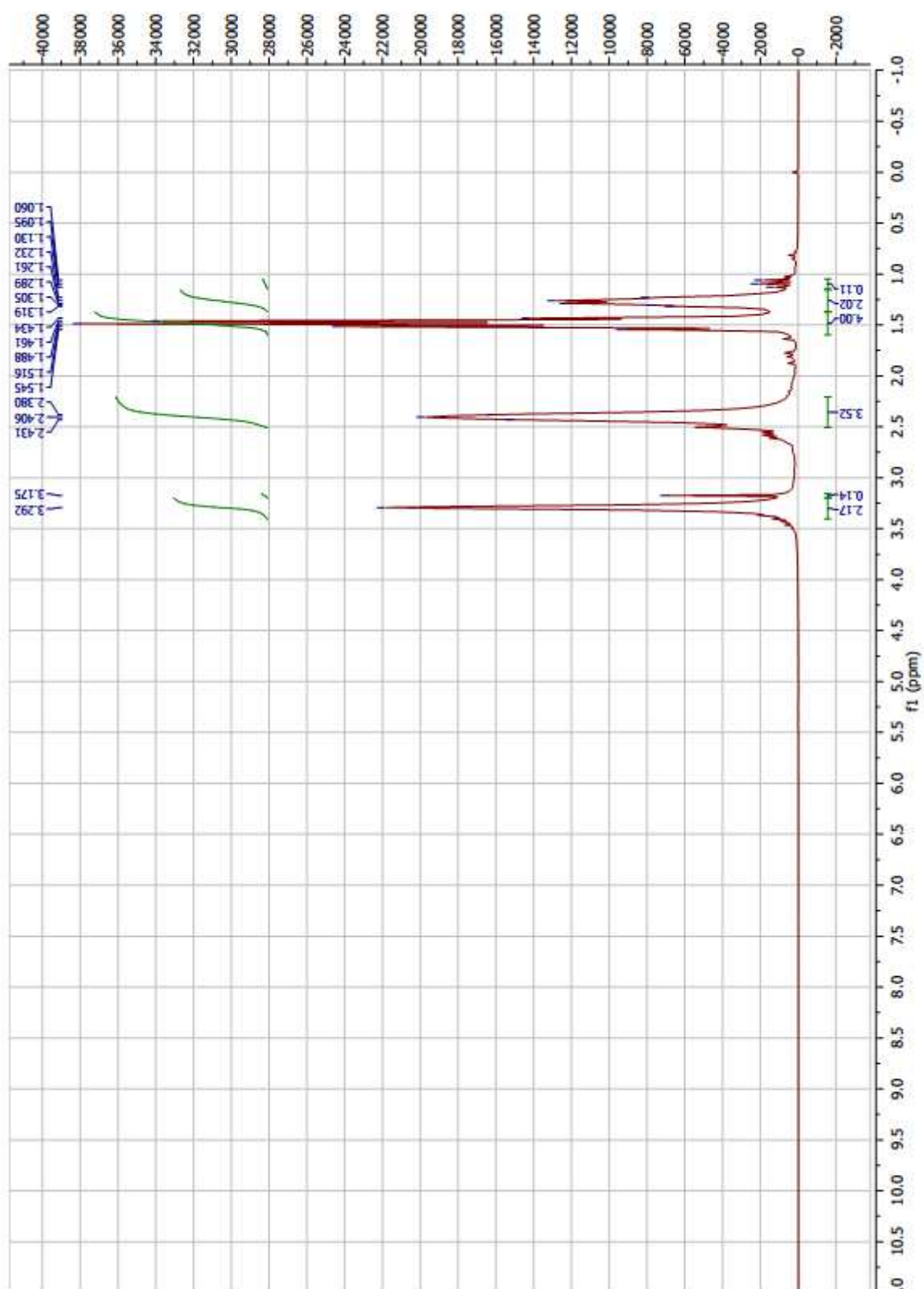
LISA 1



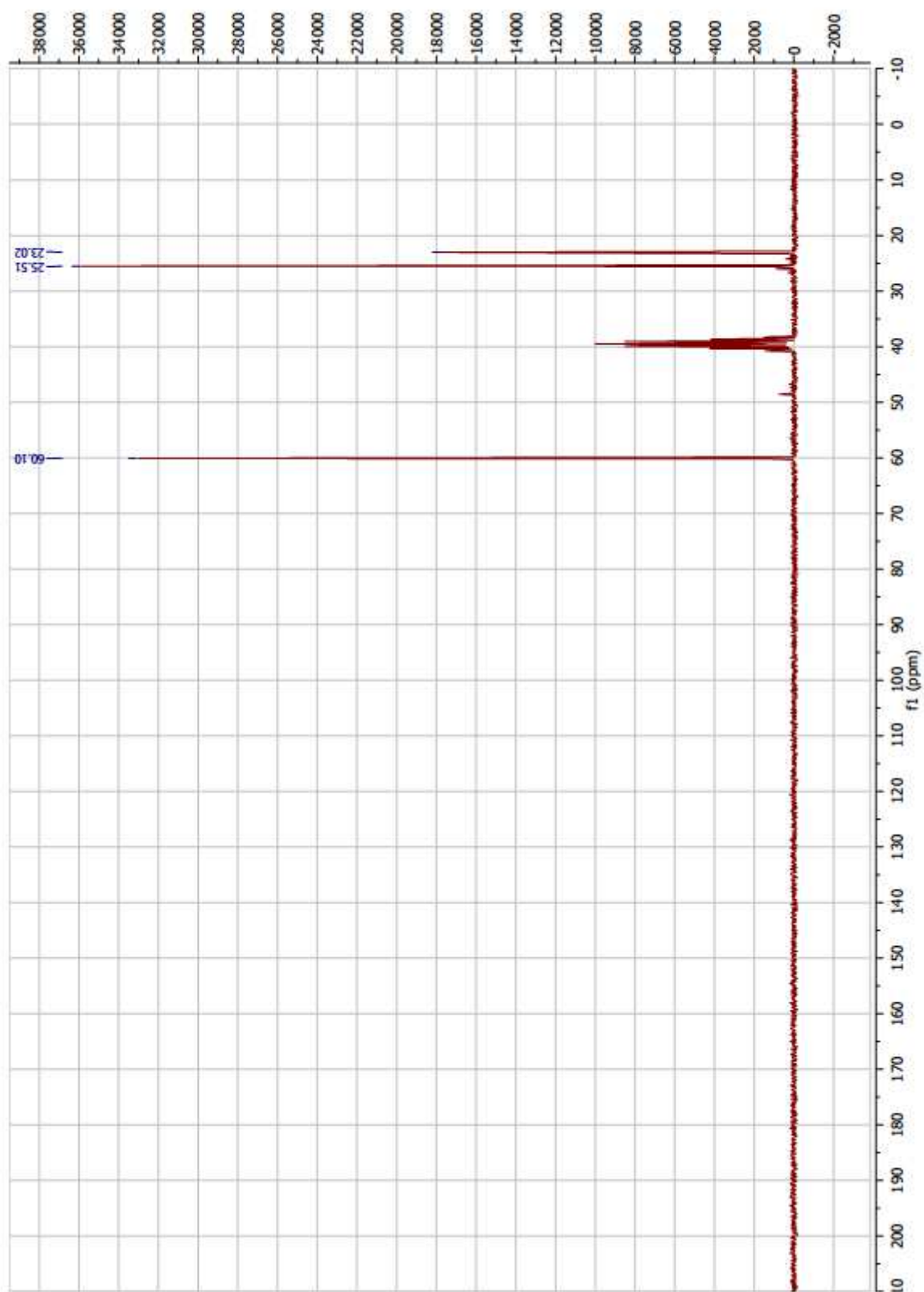
LISA 2



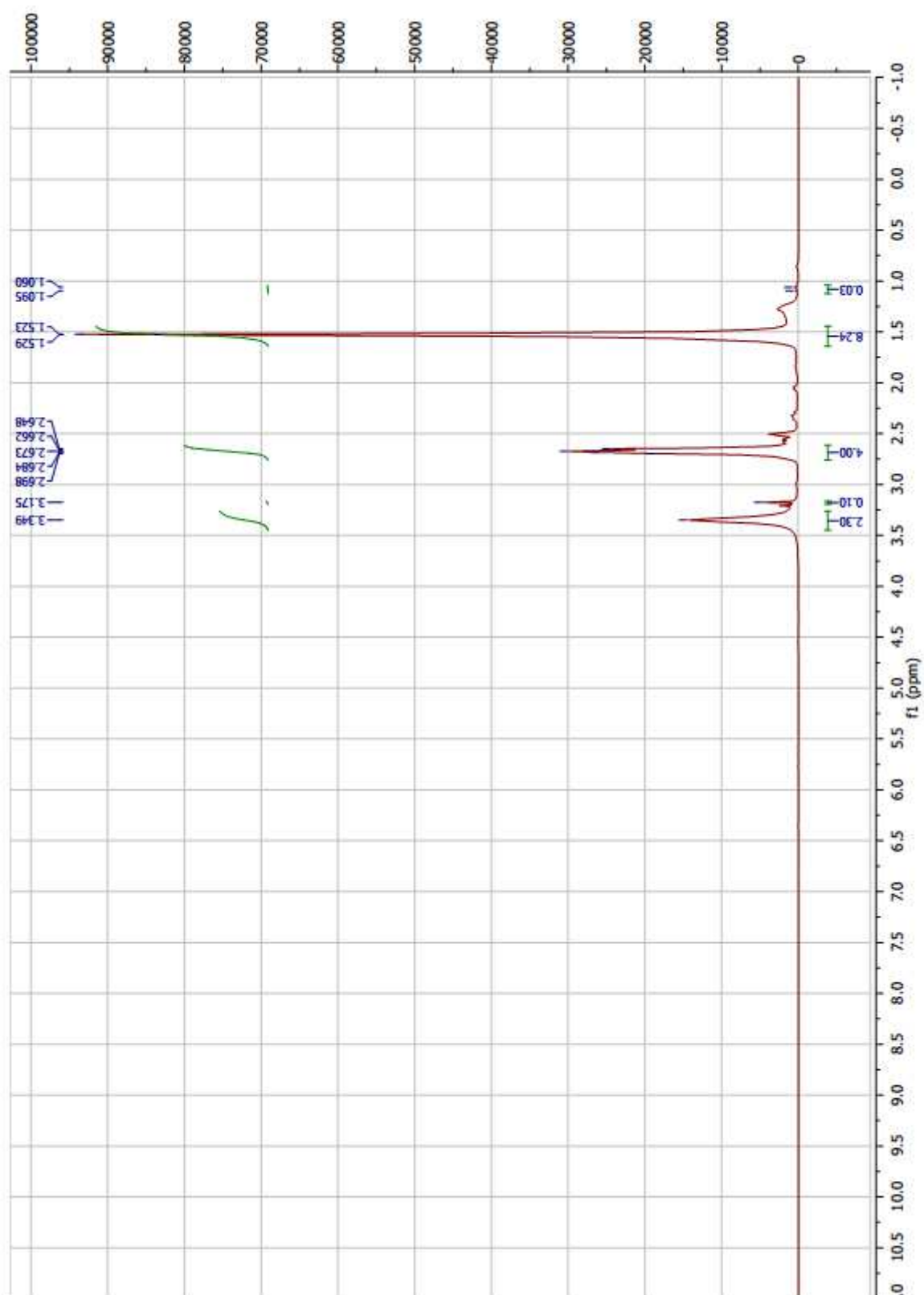
LISA 3



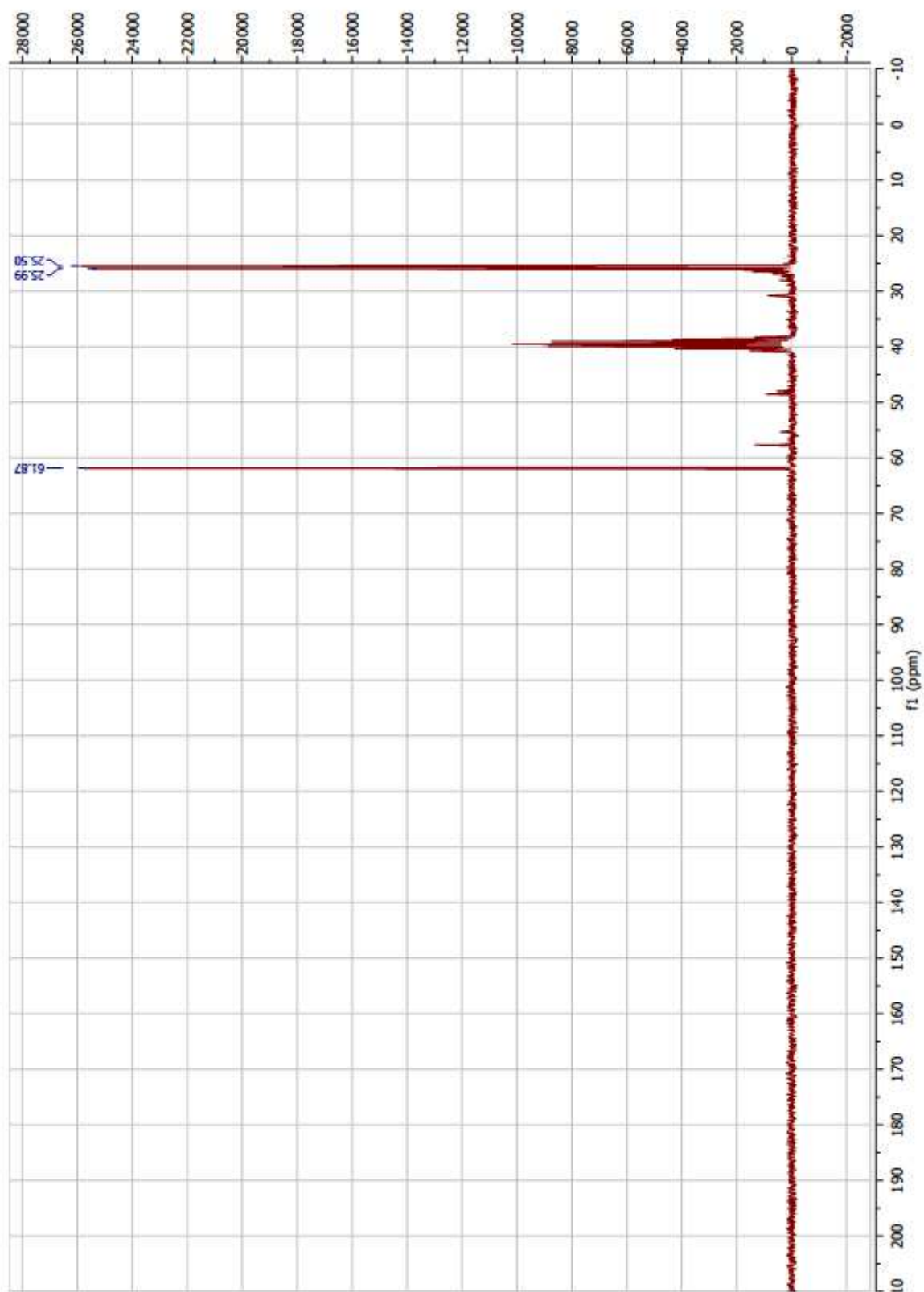
LISA 4



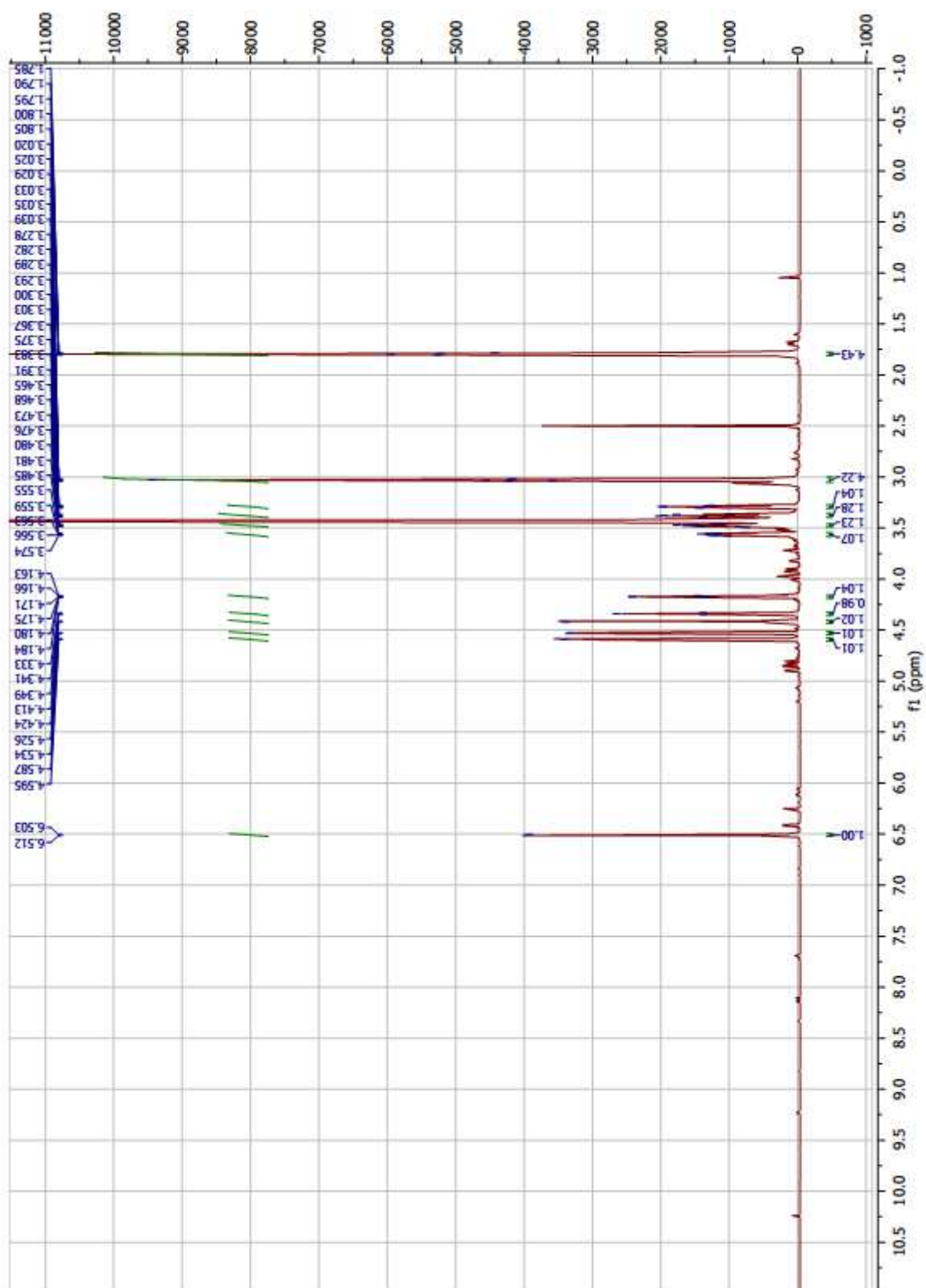
LISA 5



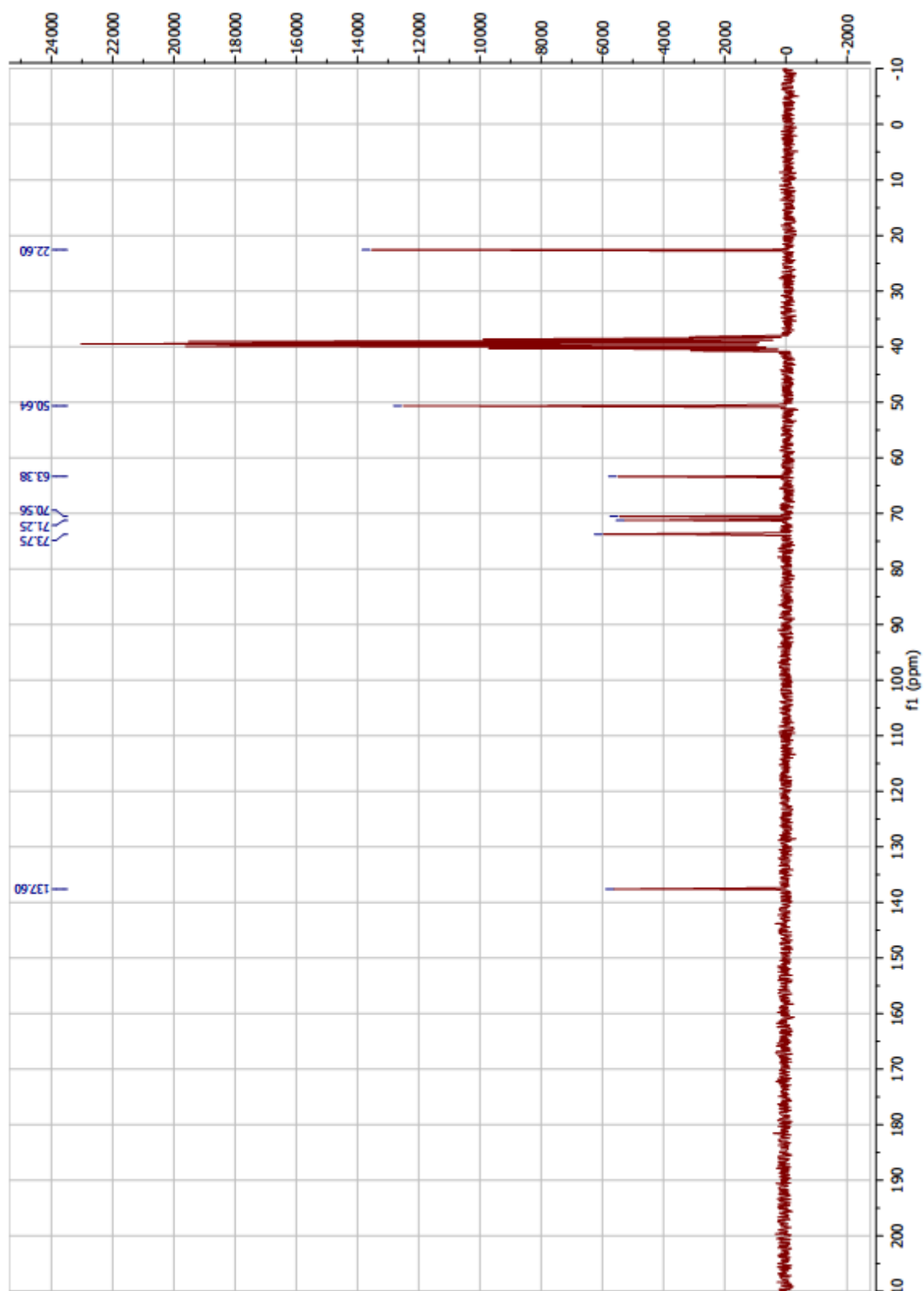
LISA 6



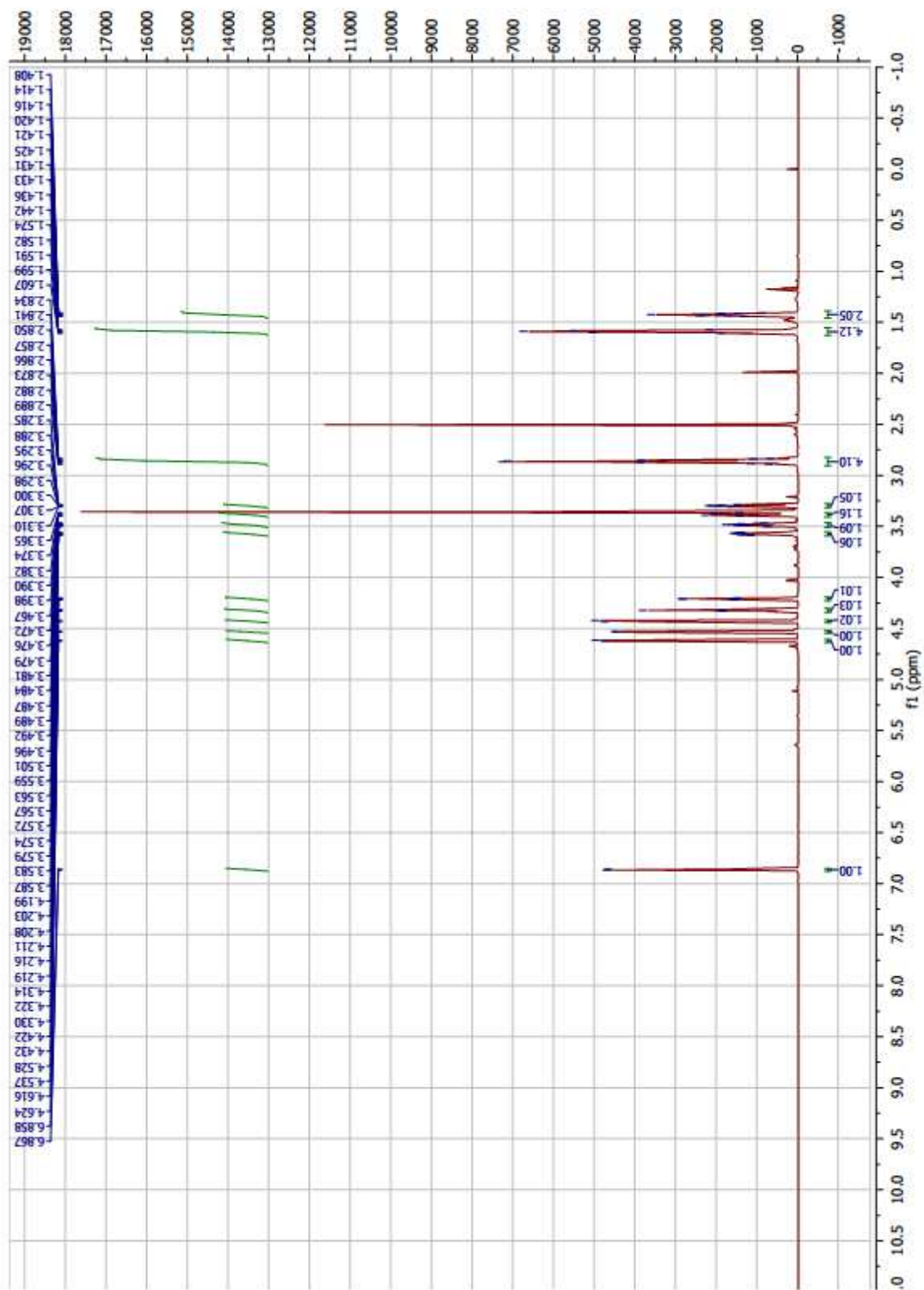
LISA 7



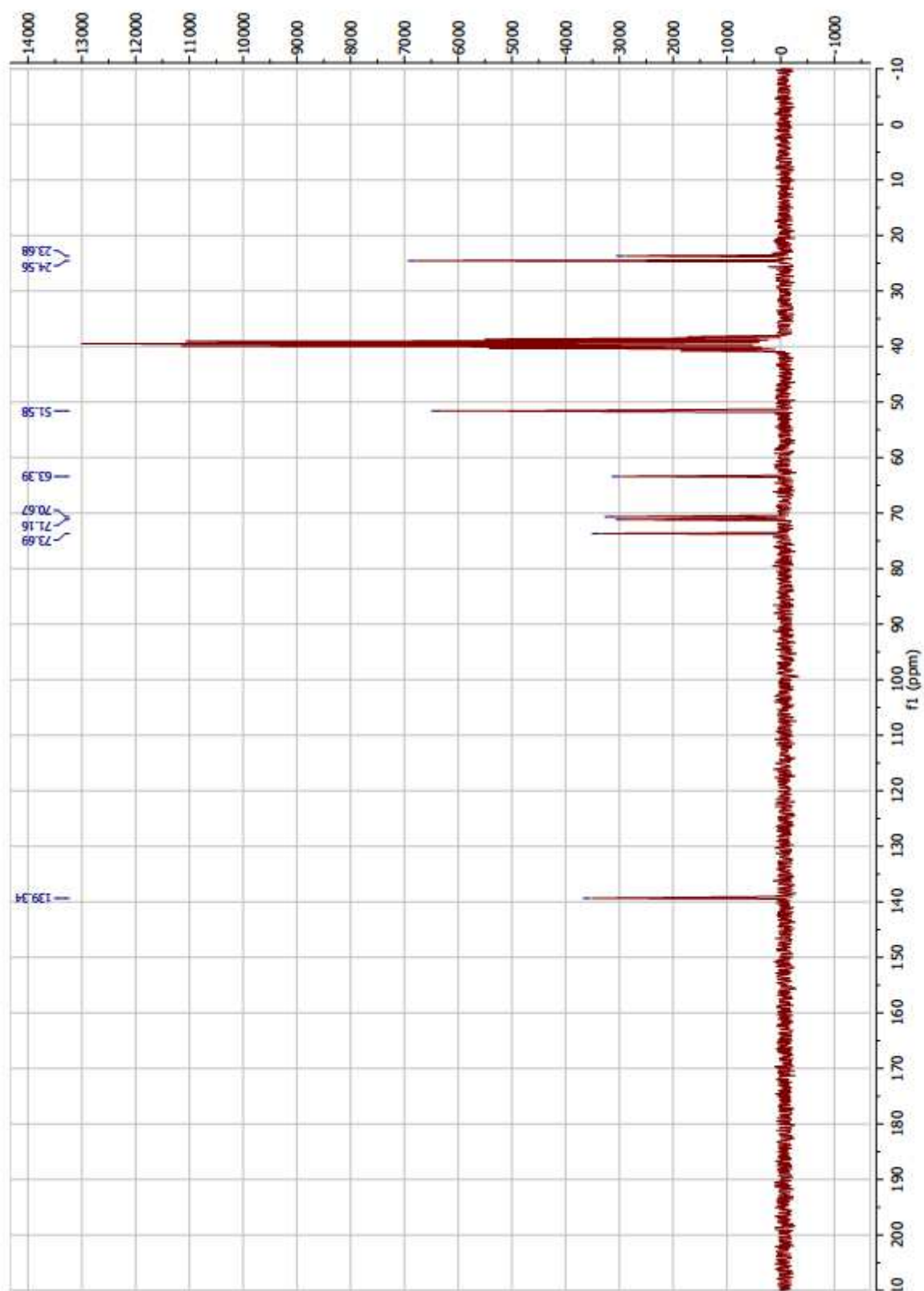
LISA 8



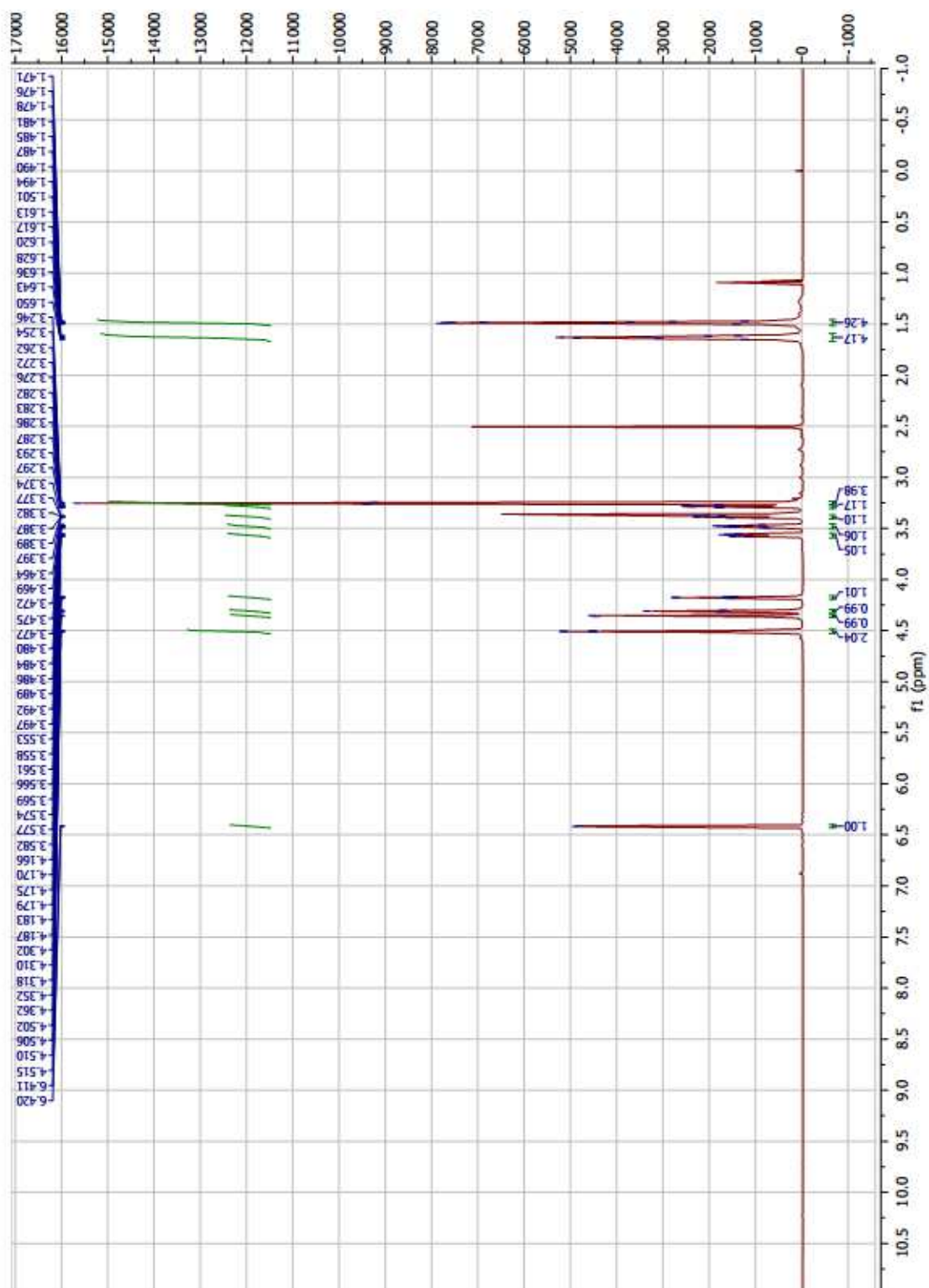
LISA 9



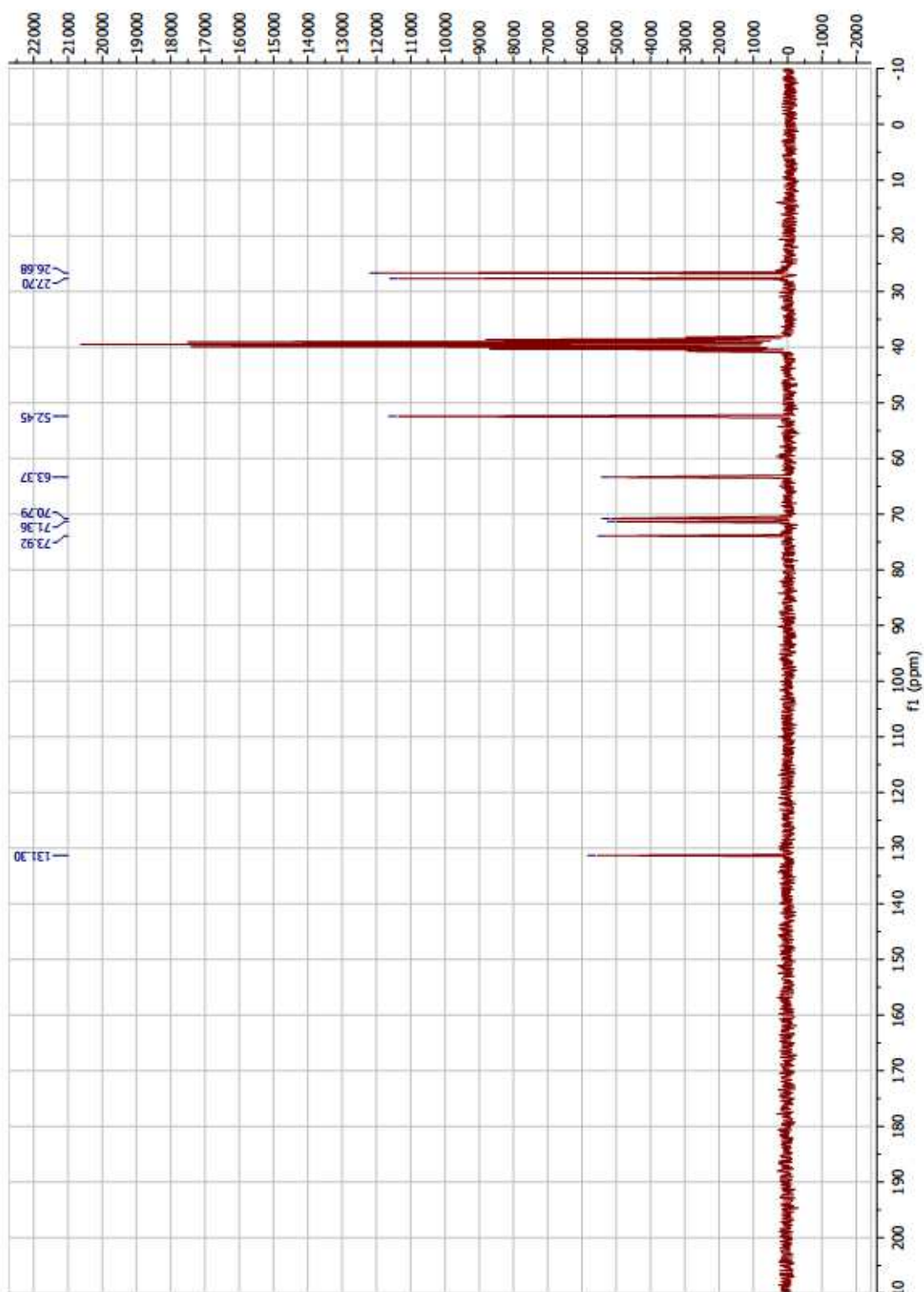
LISA 10



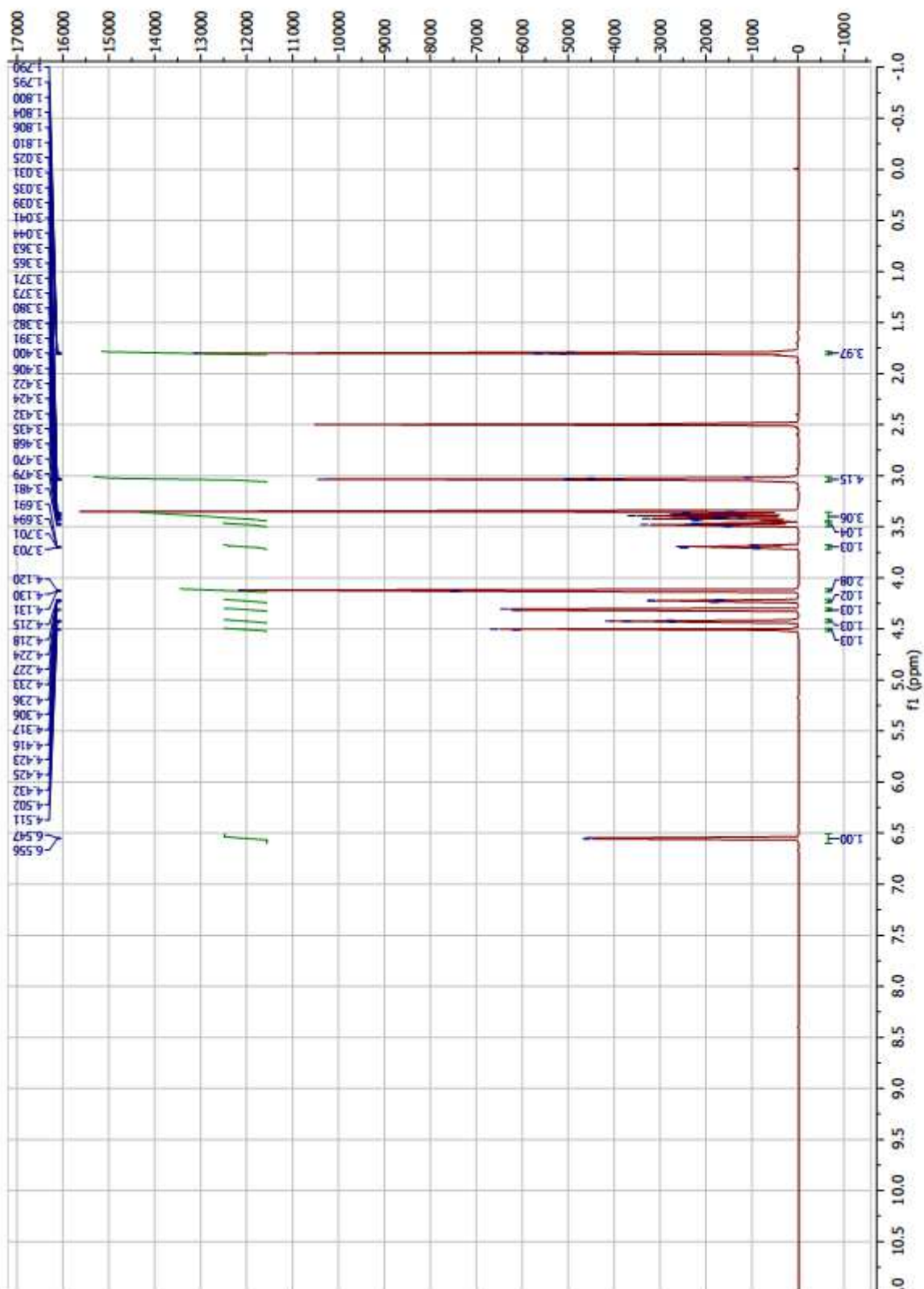
LISA 11



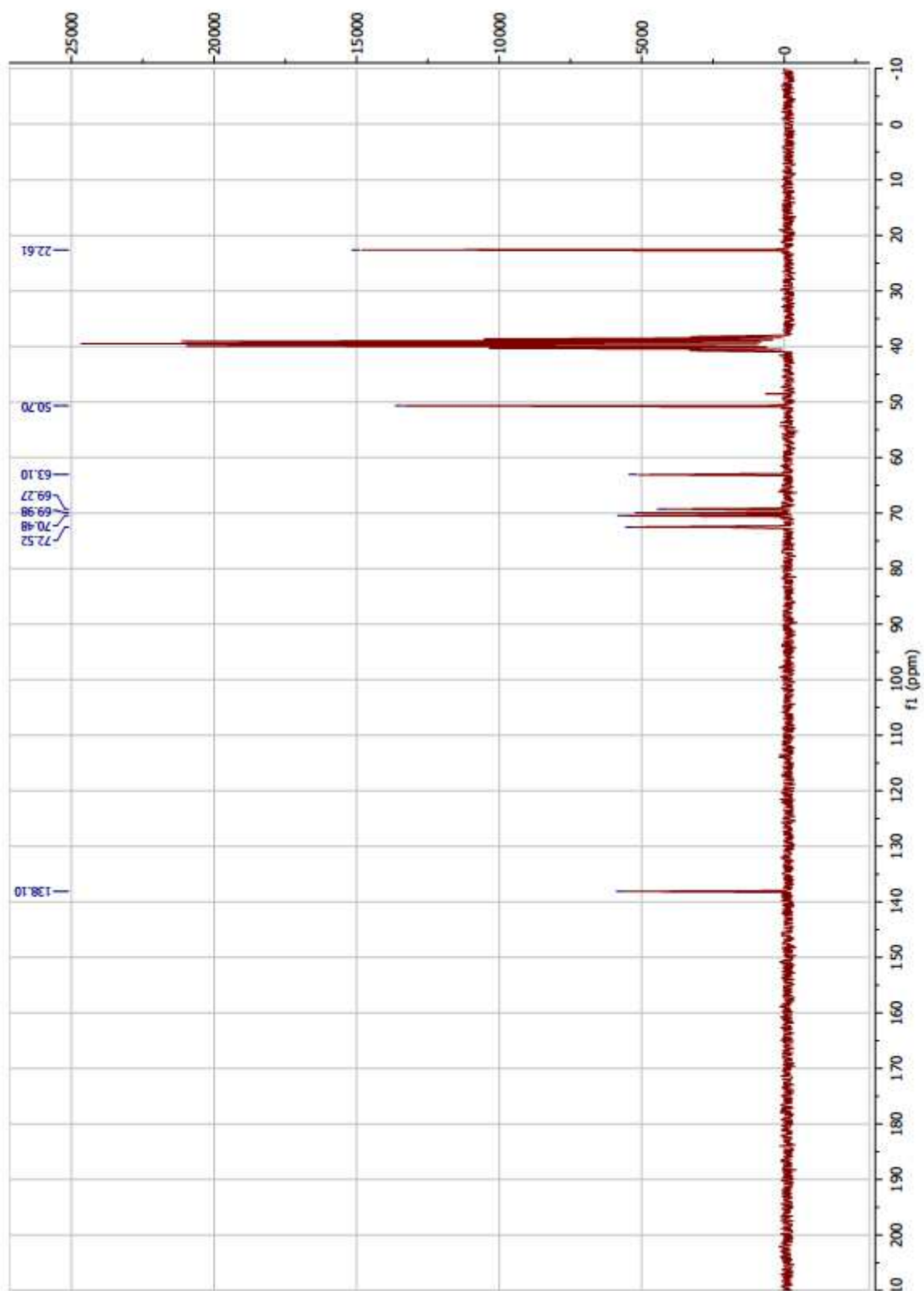
LISA 12



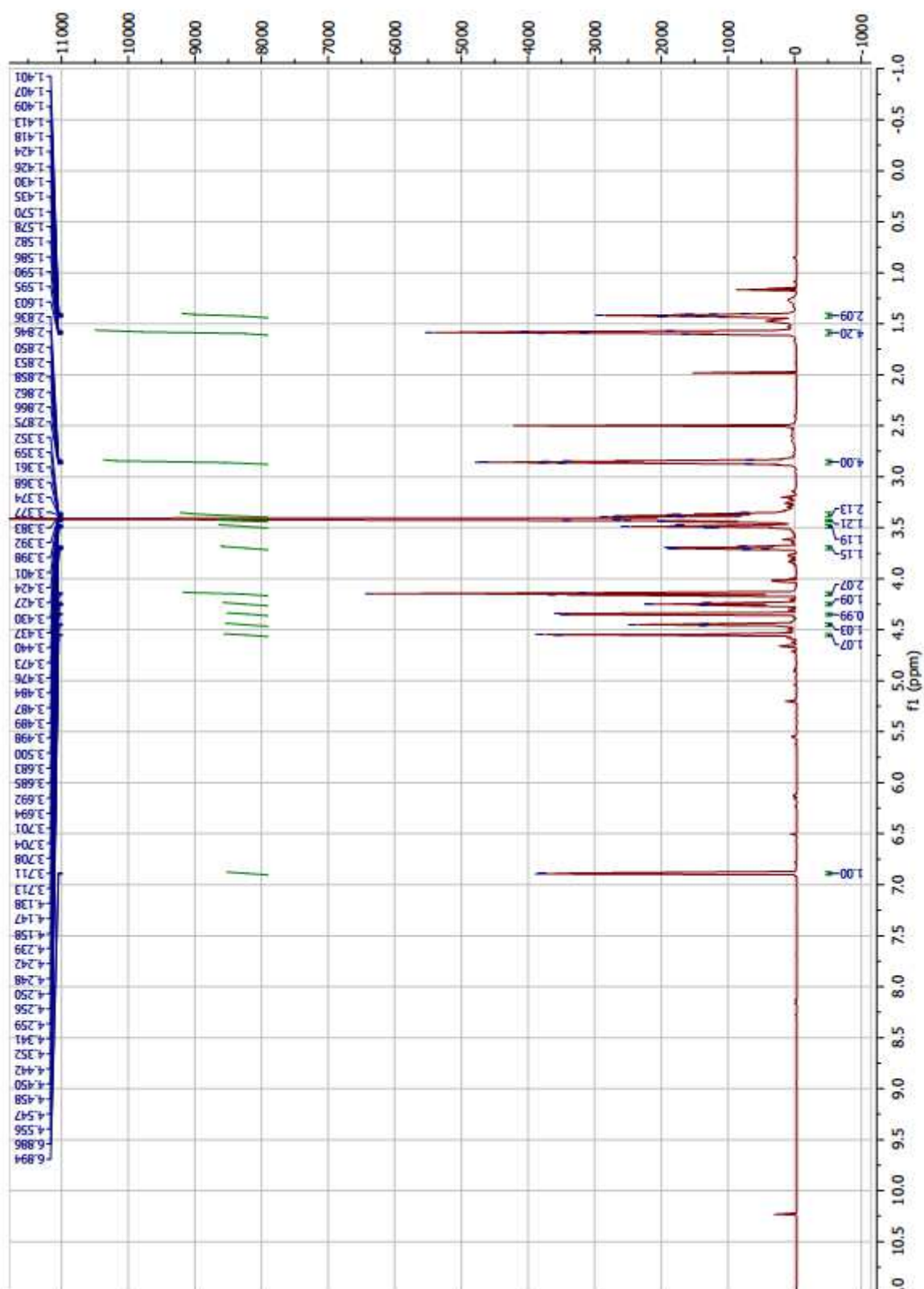
LISA 13



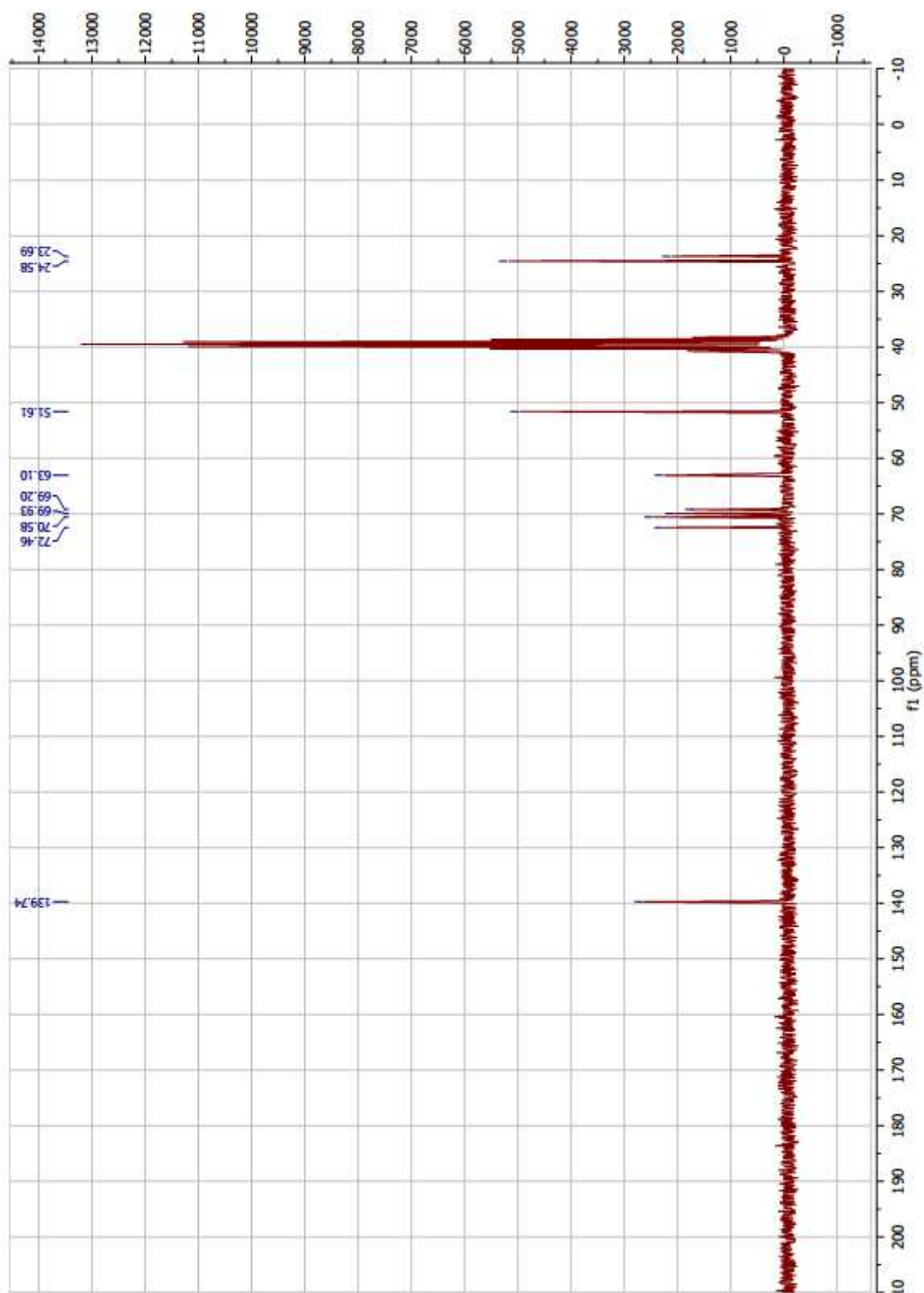
LISA 14

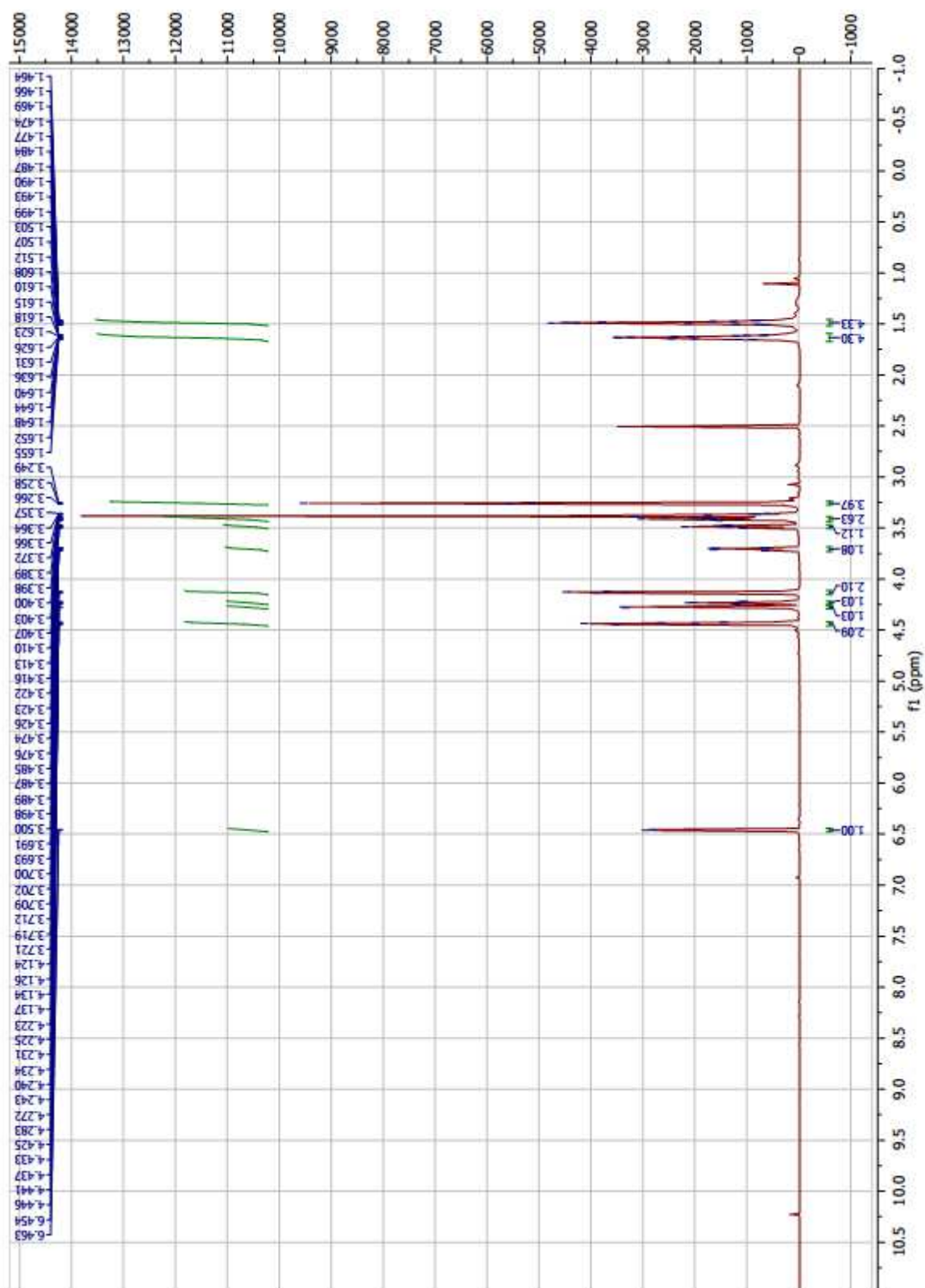


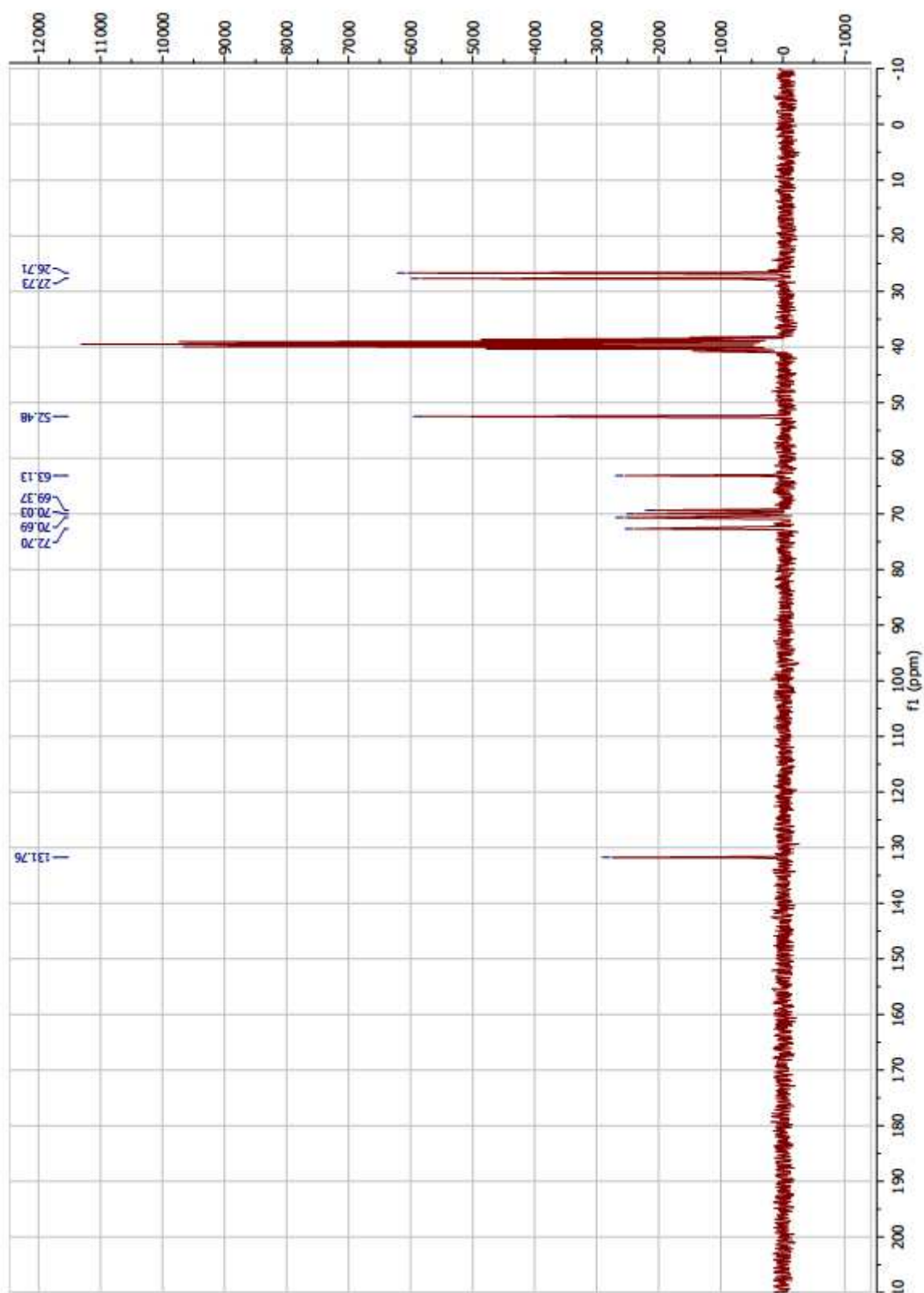
LISA 15



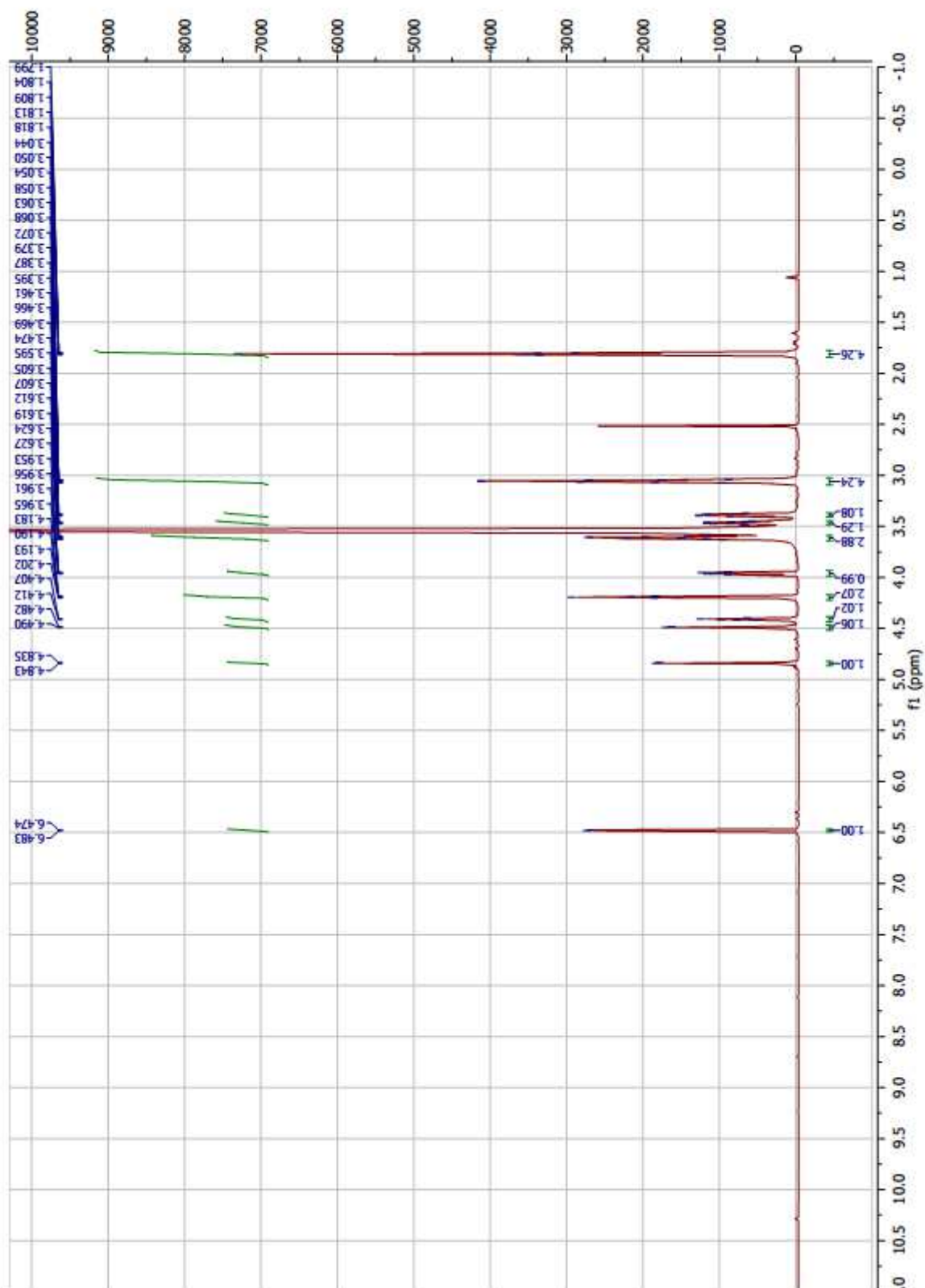
LISA 16



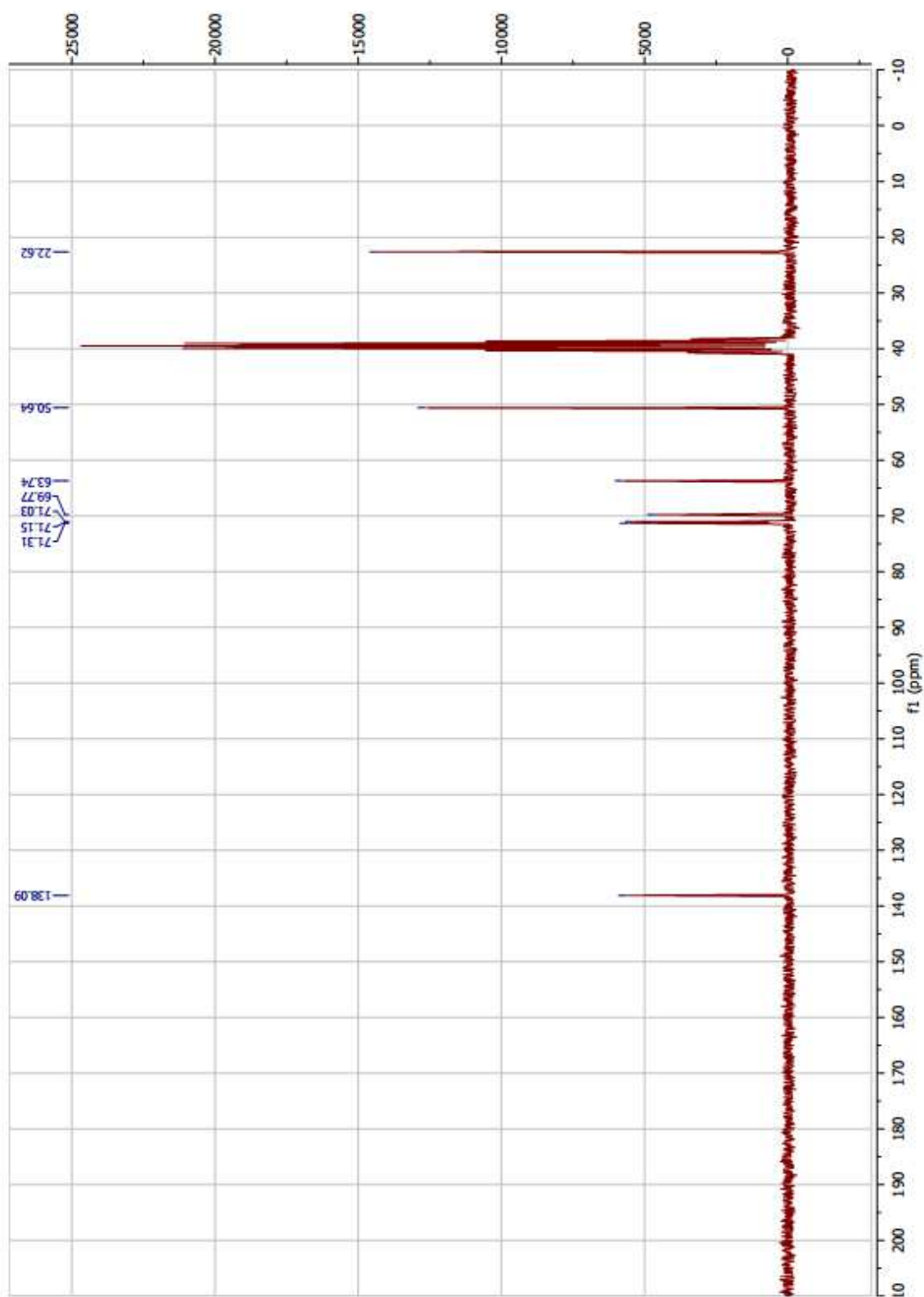




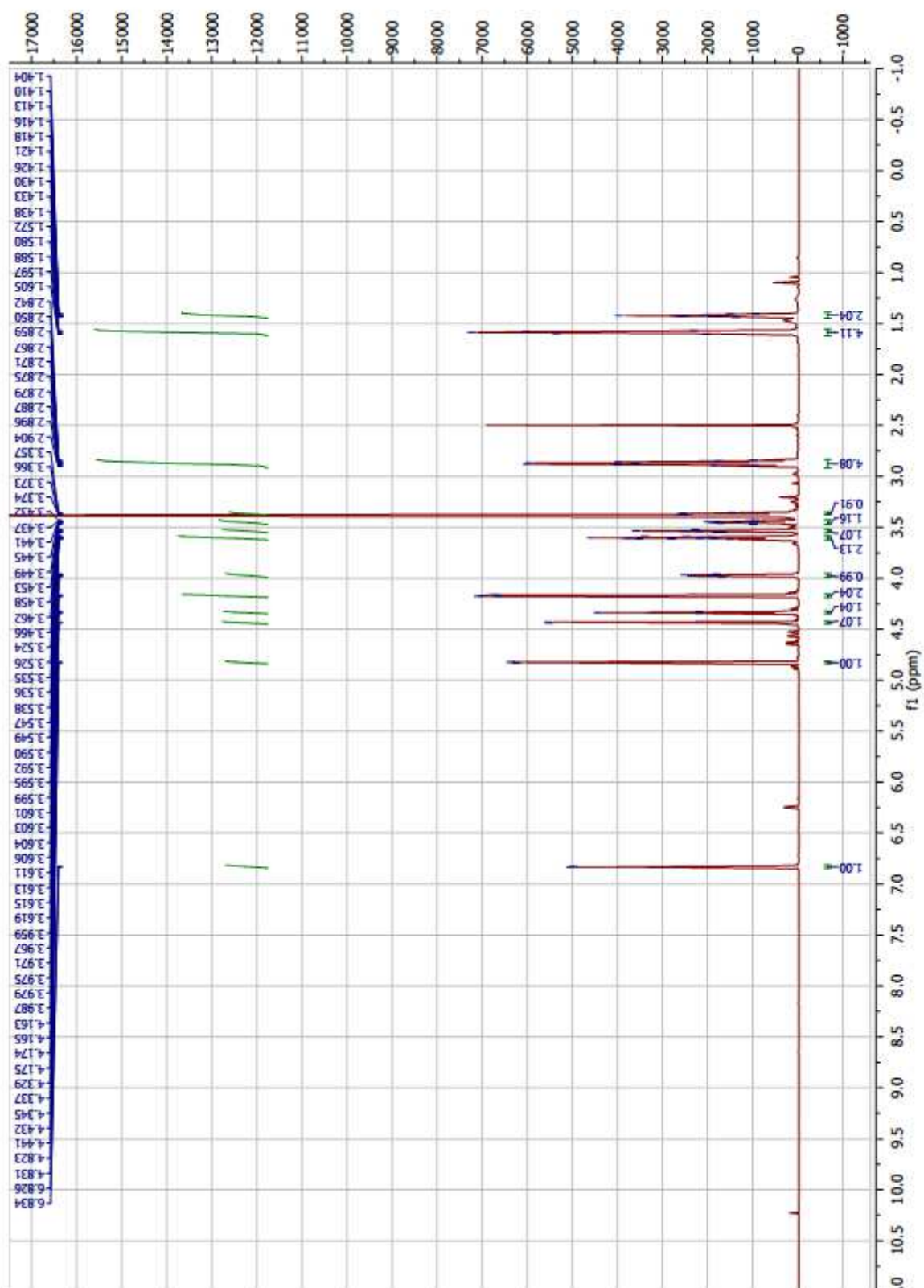
LISA 19



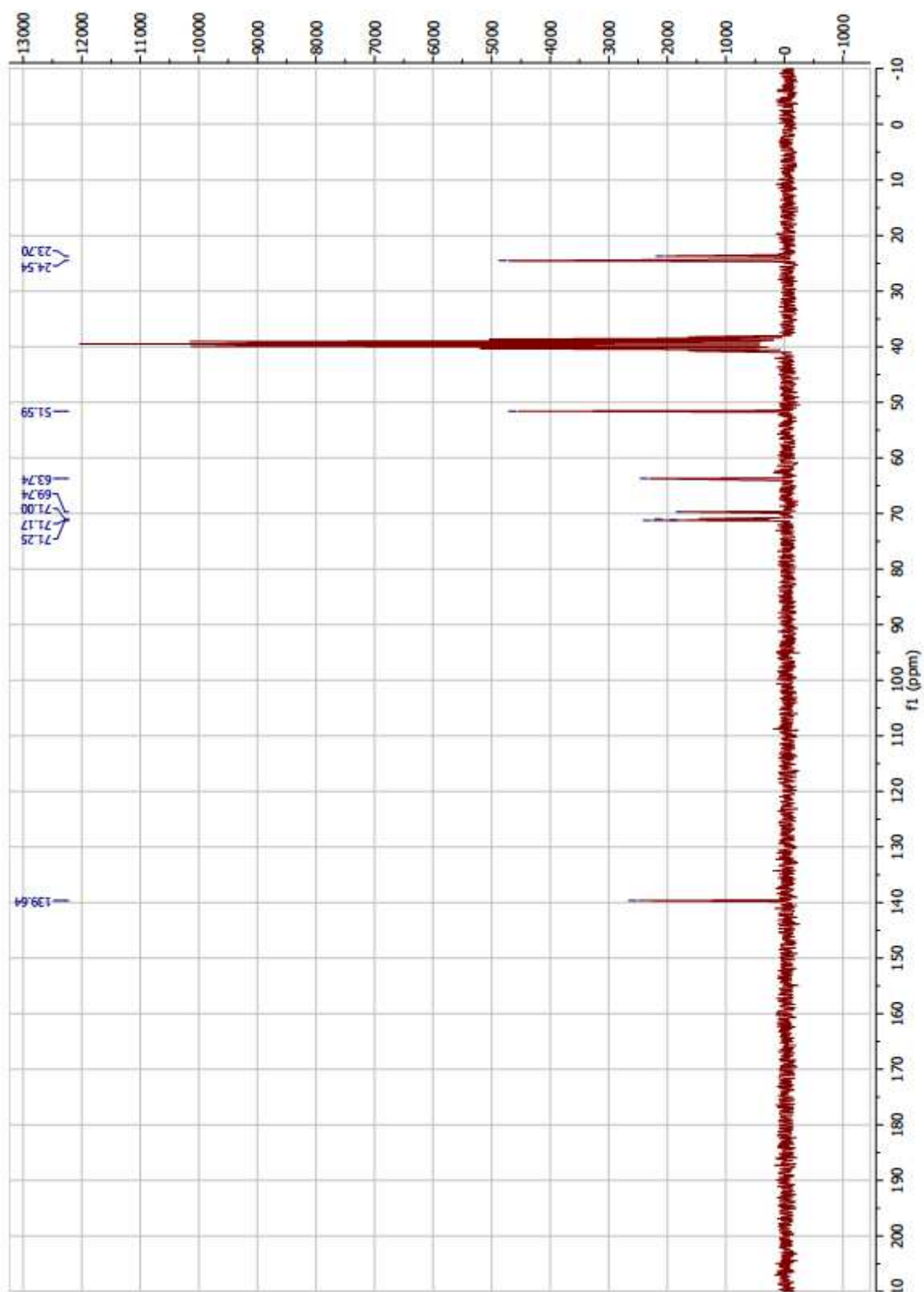
LISA 20

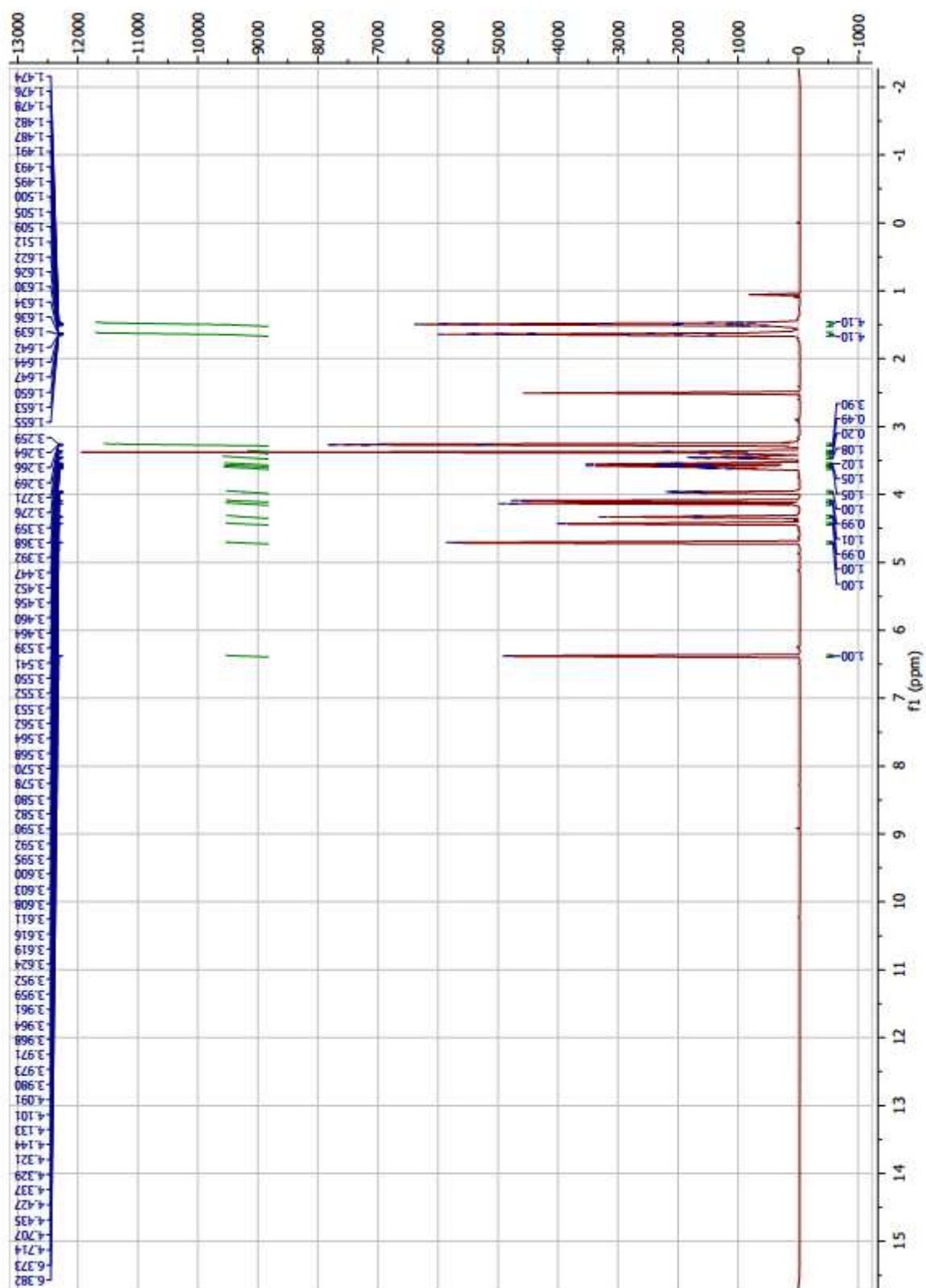


LISA 21

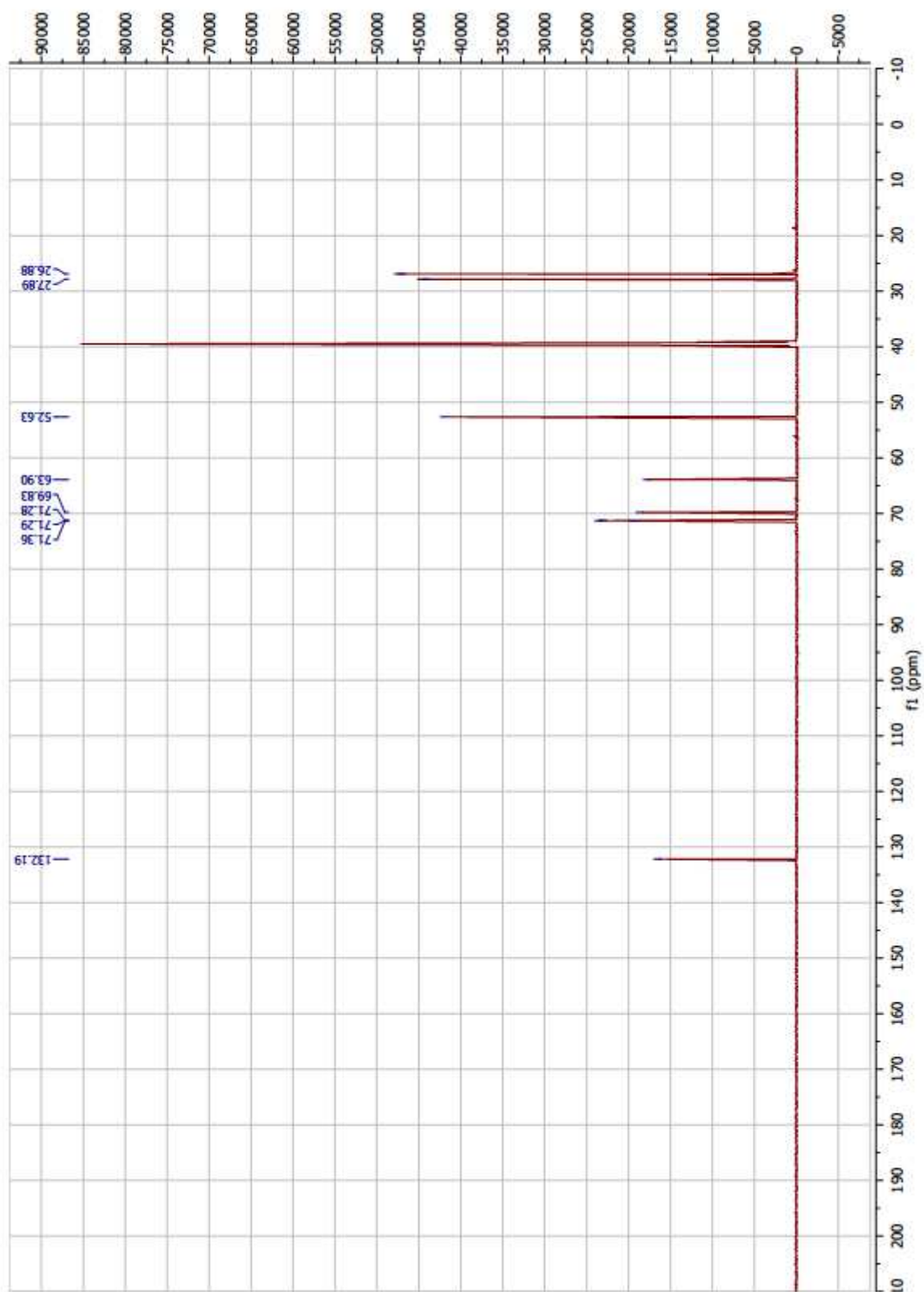


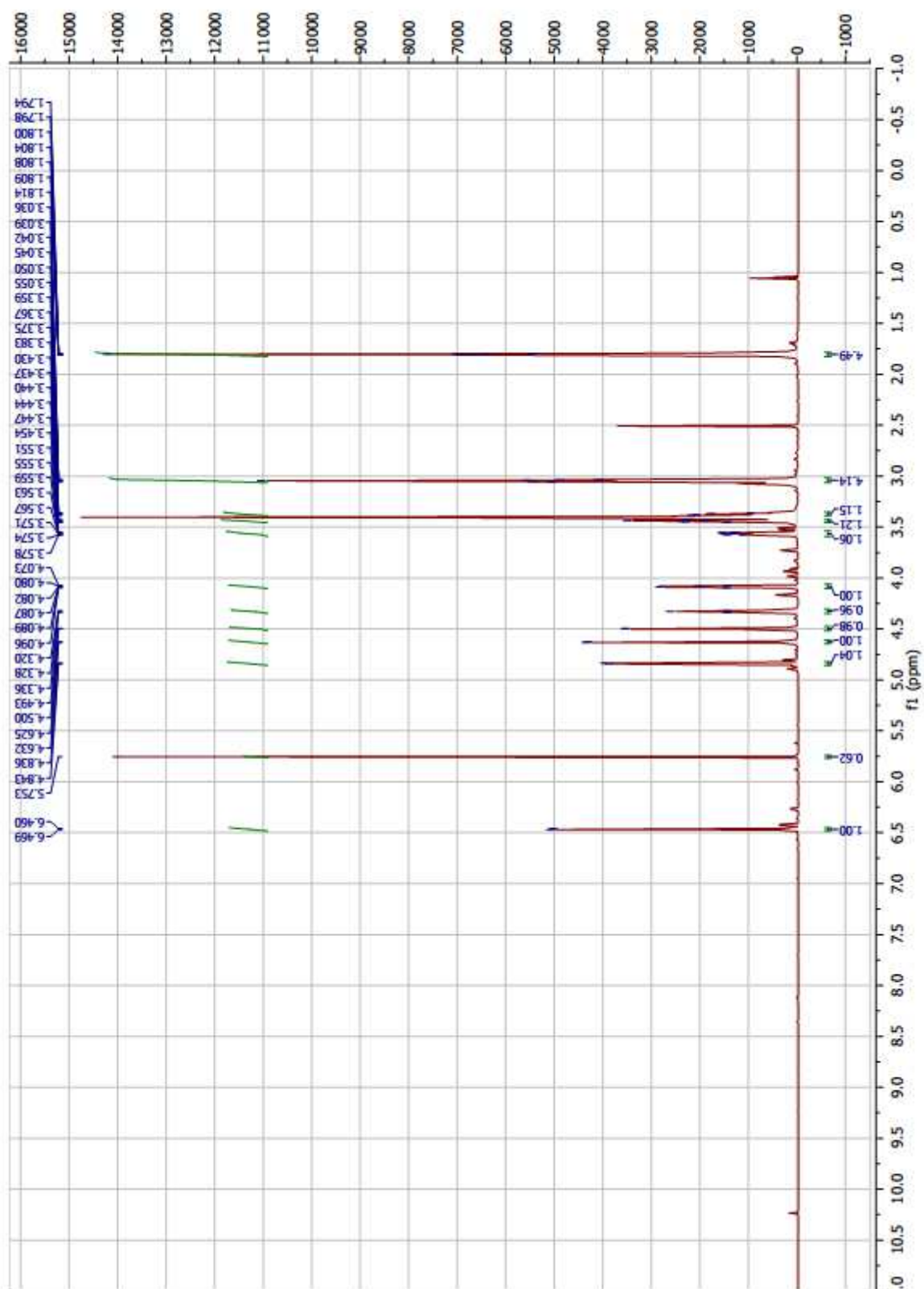
LISA 22

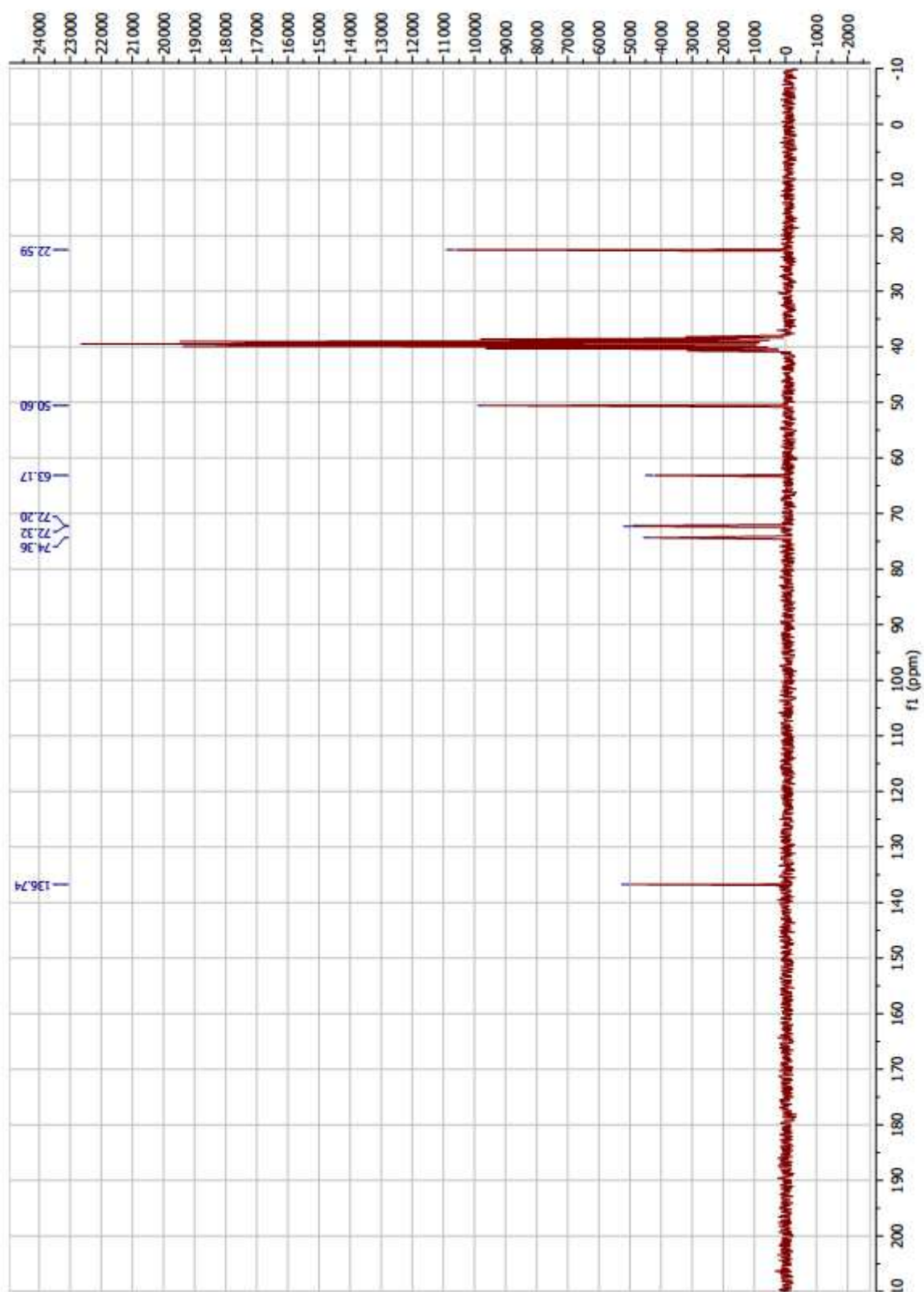




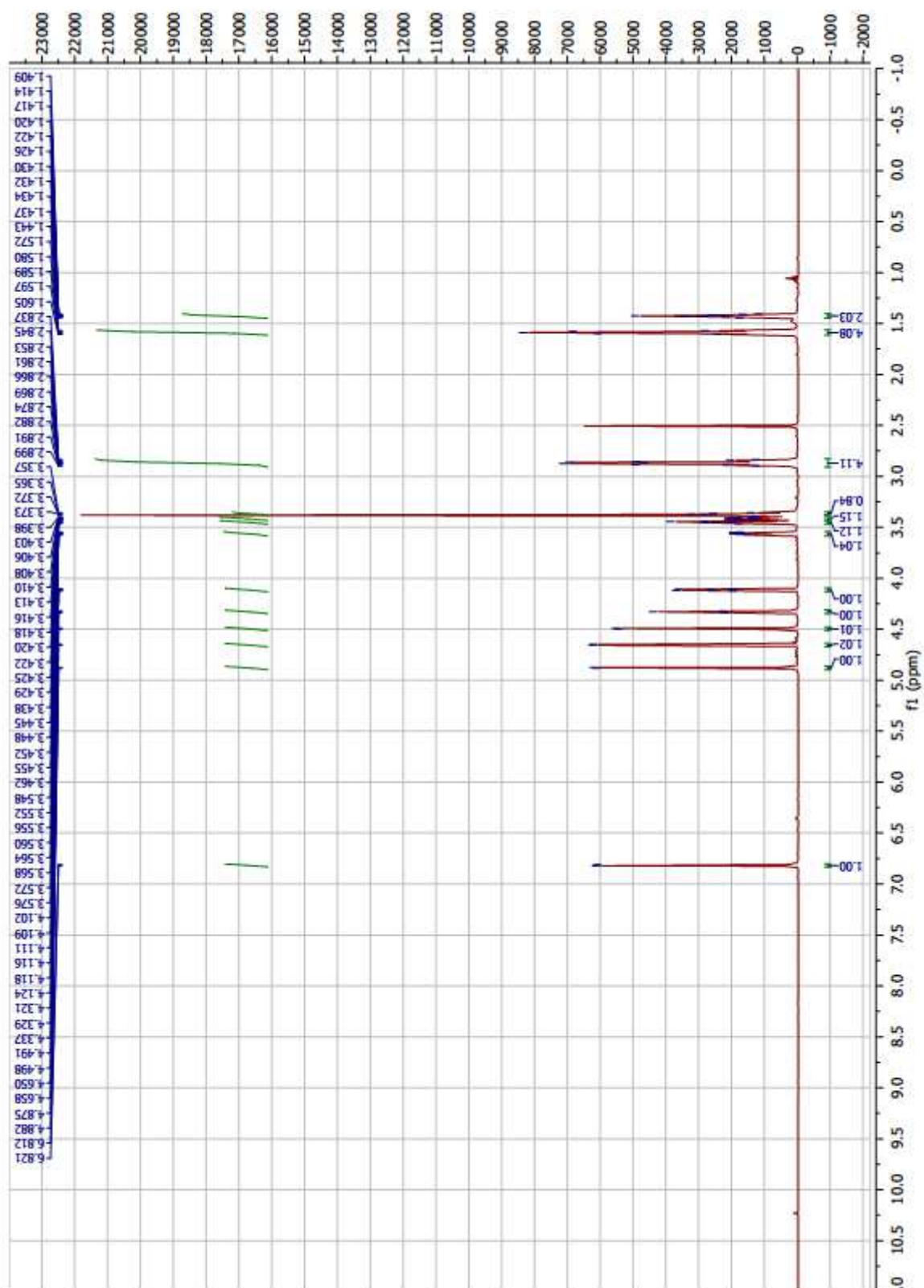
LISA 24

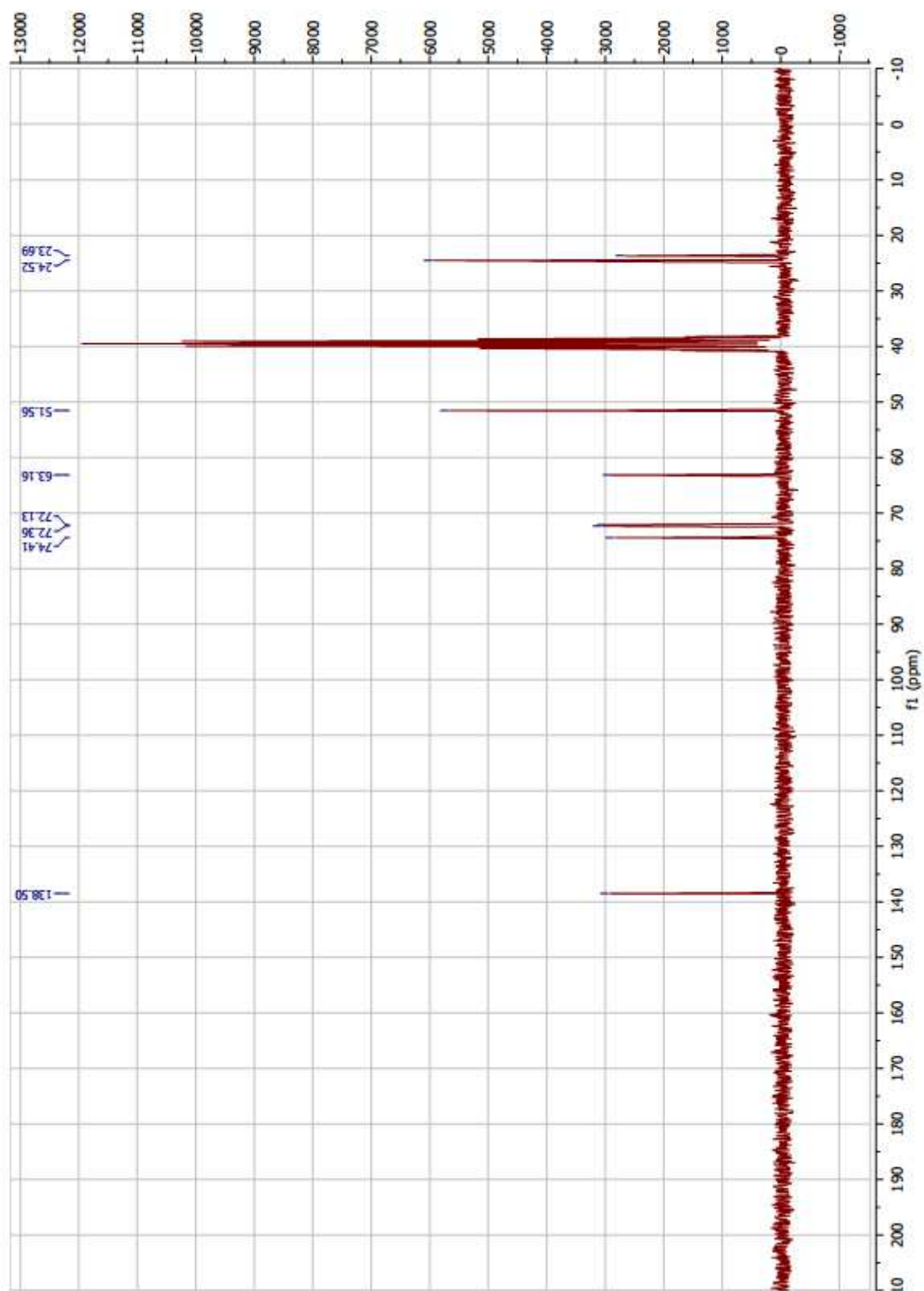


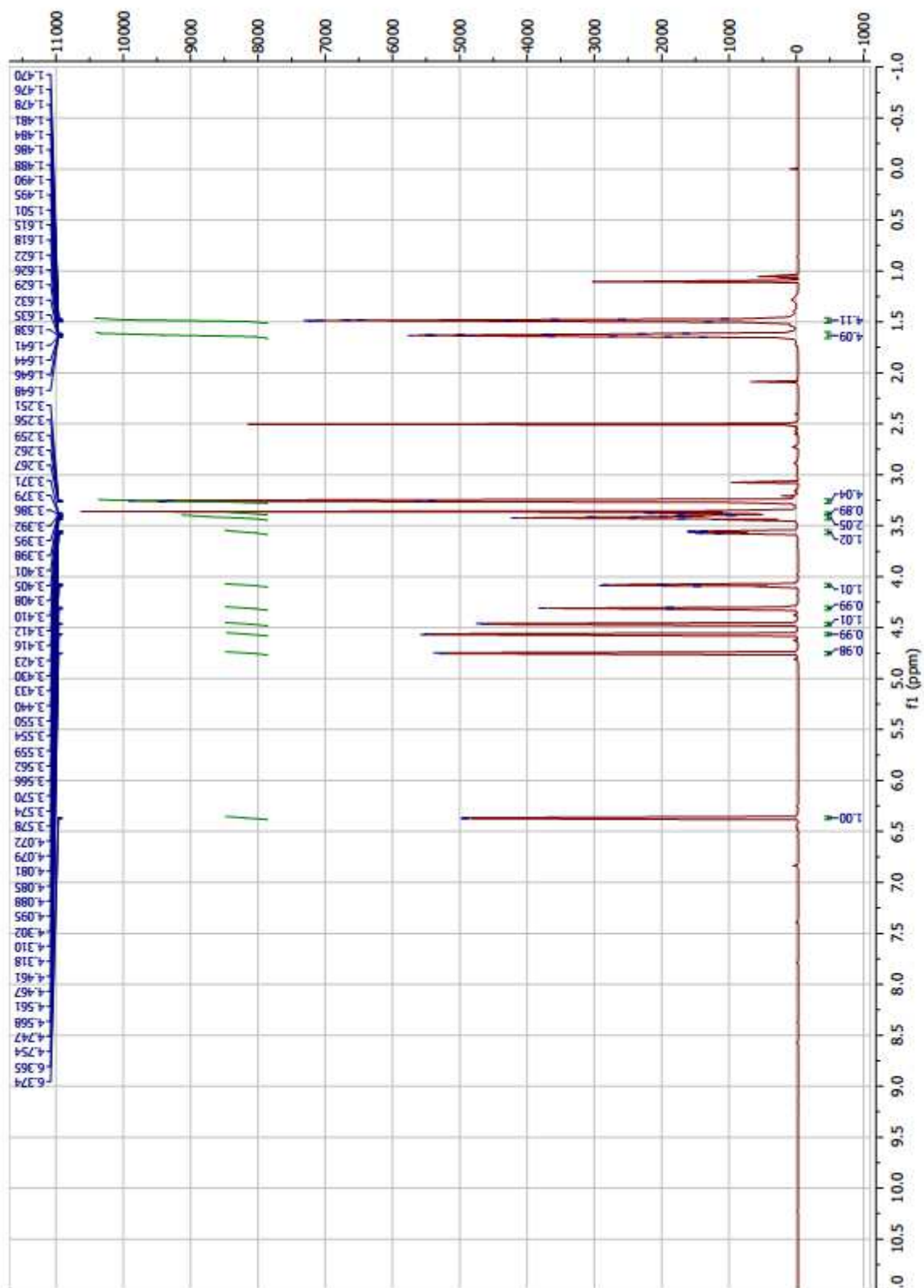




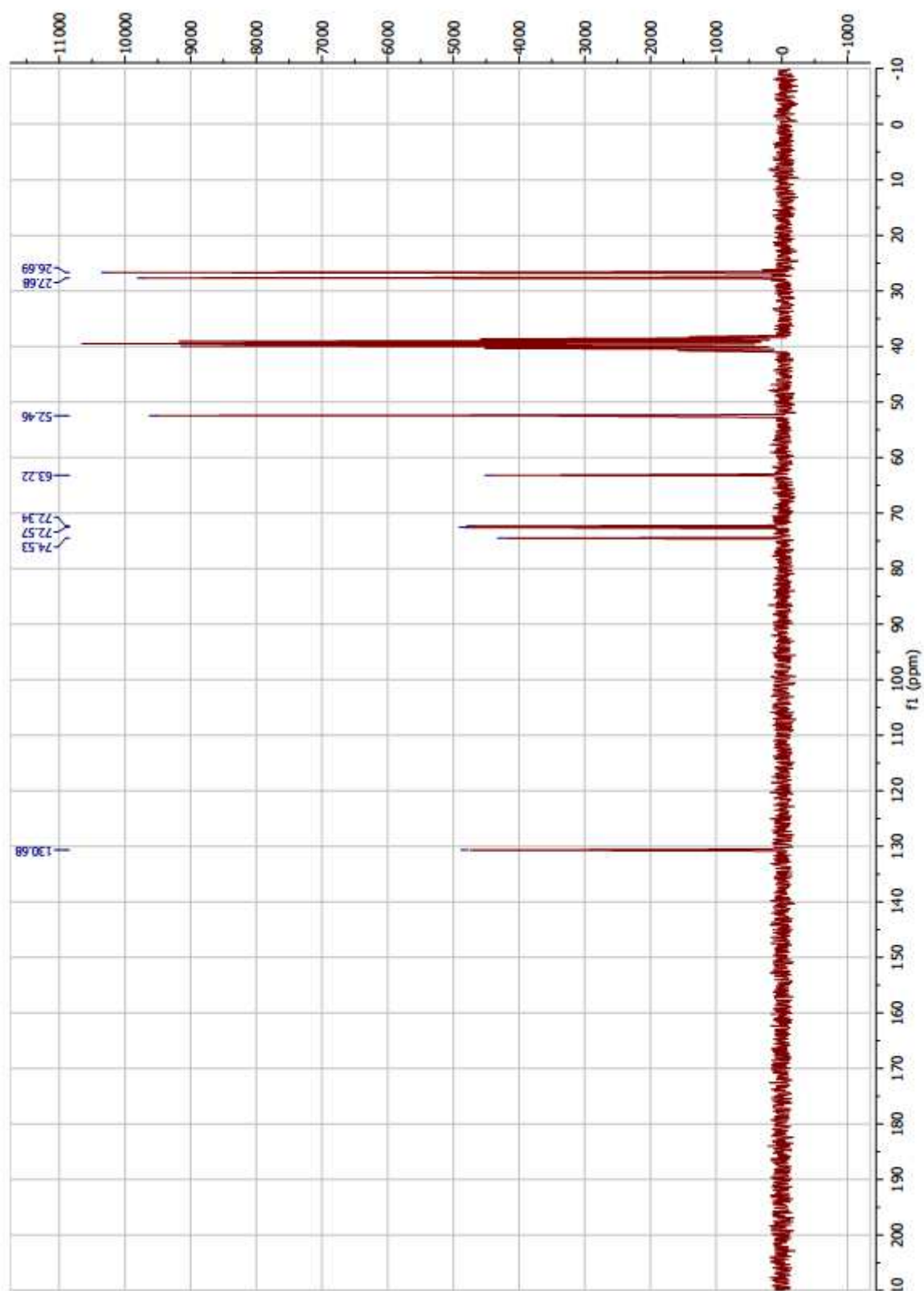
LISA 27



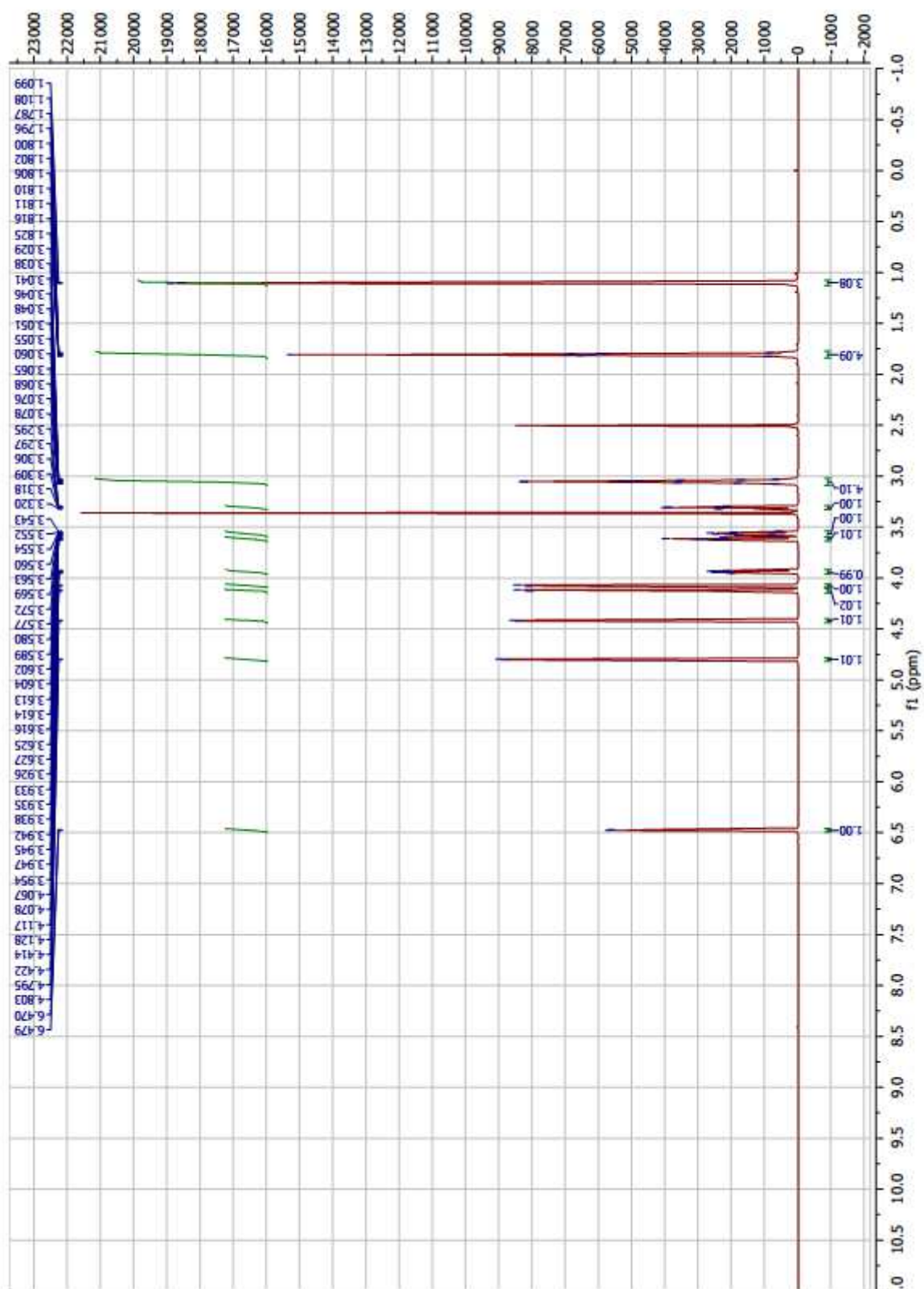


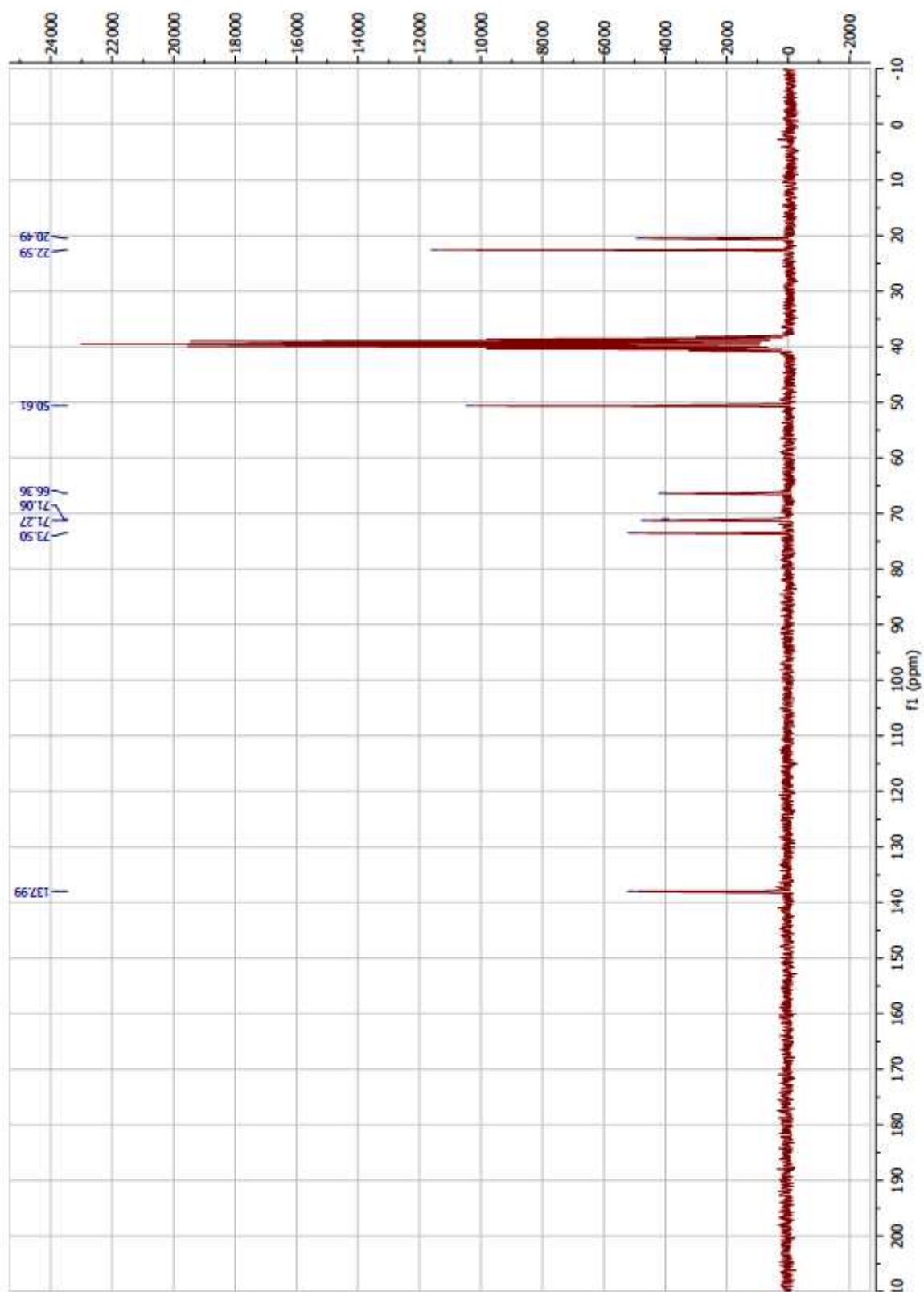


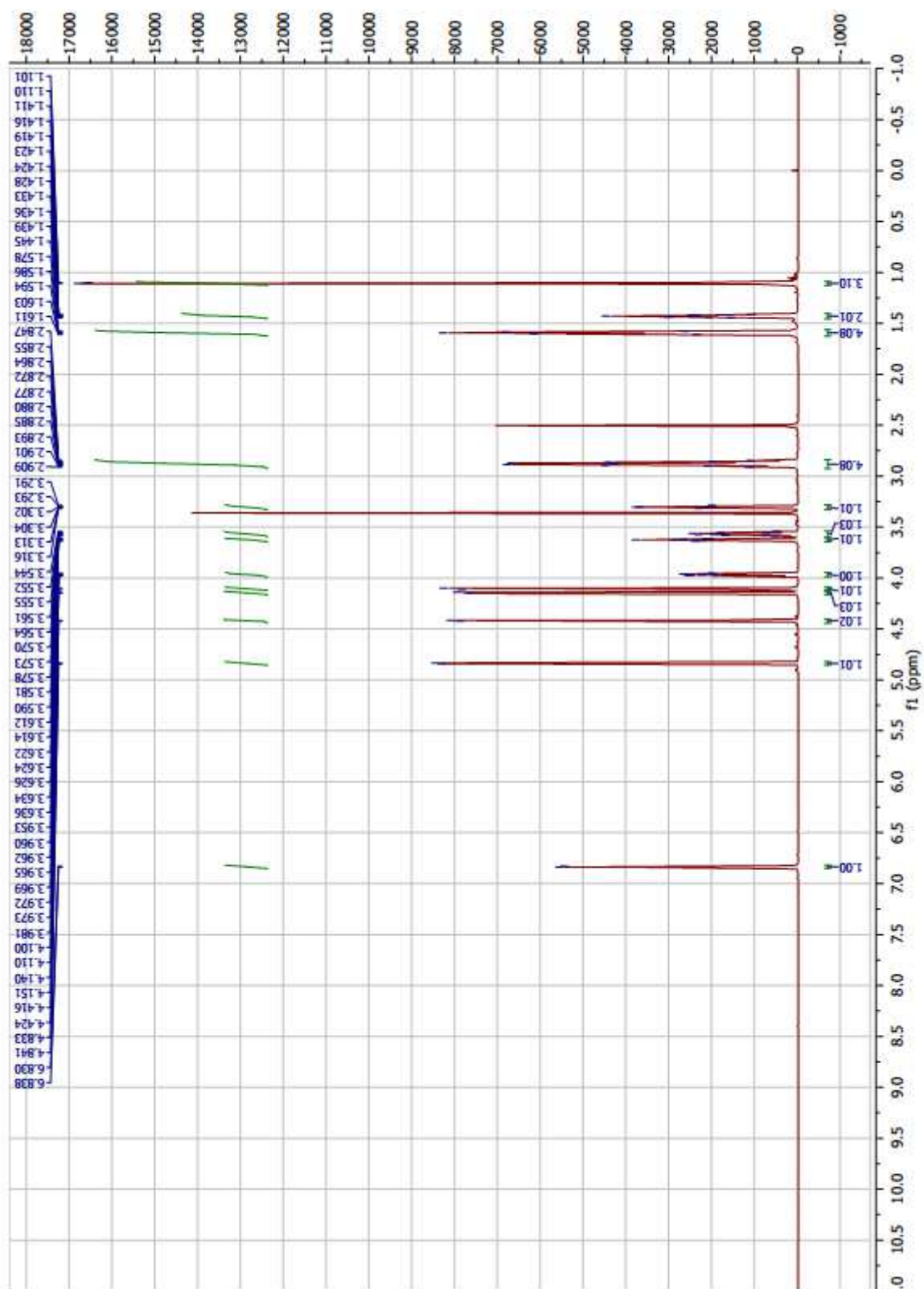
LISA 30

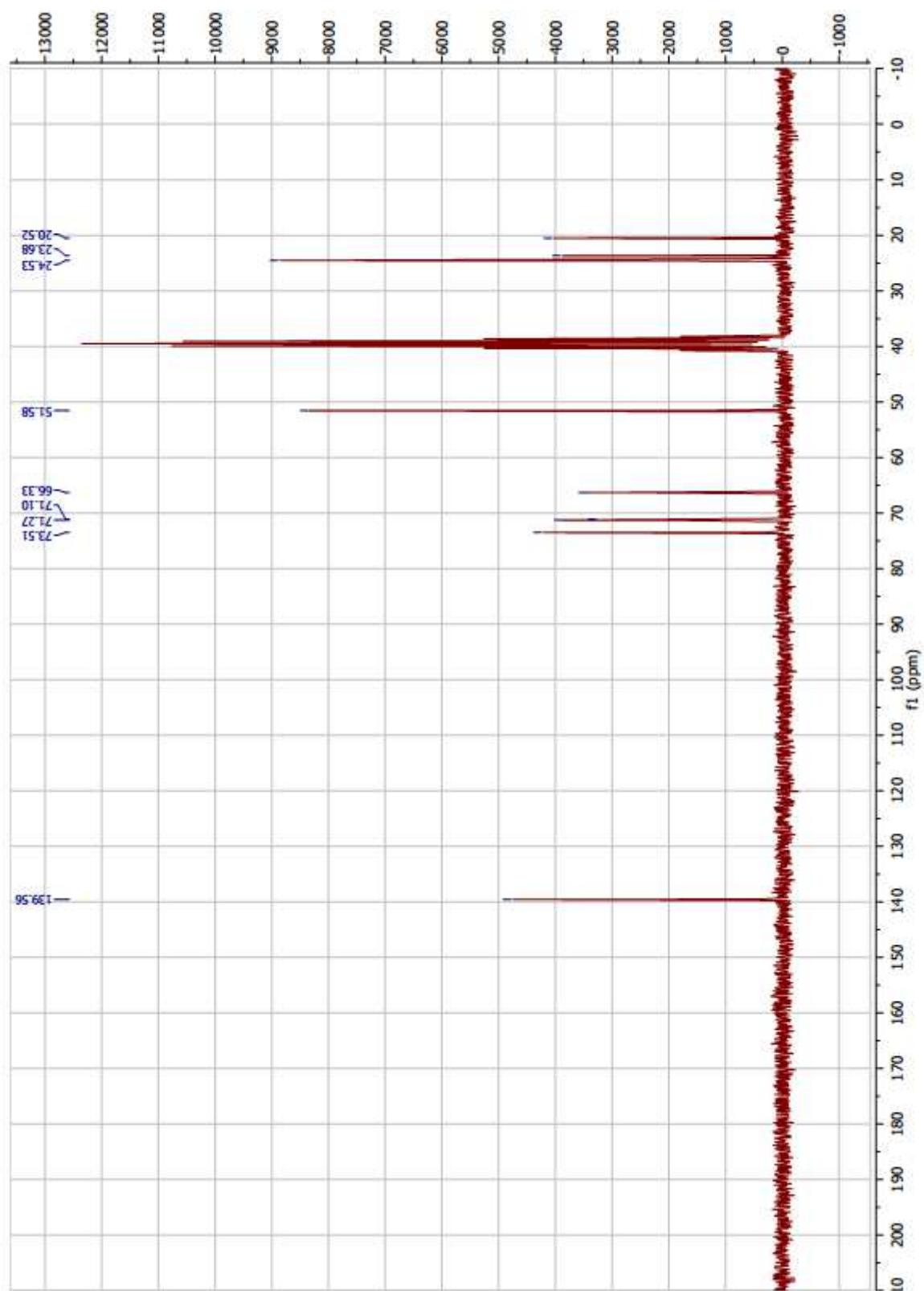


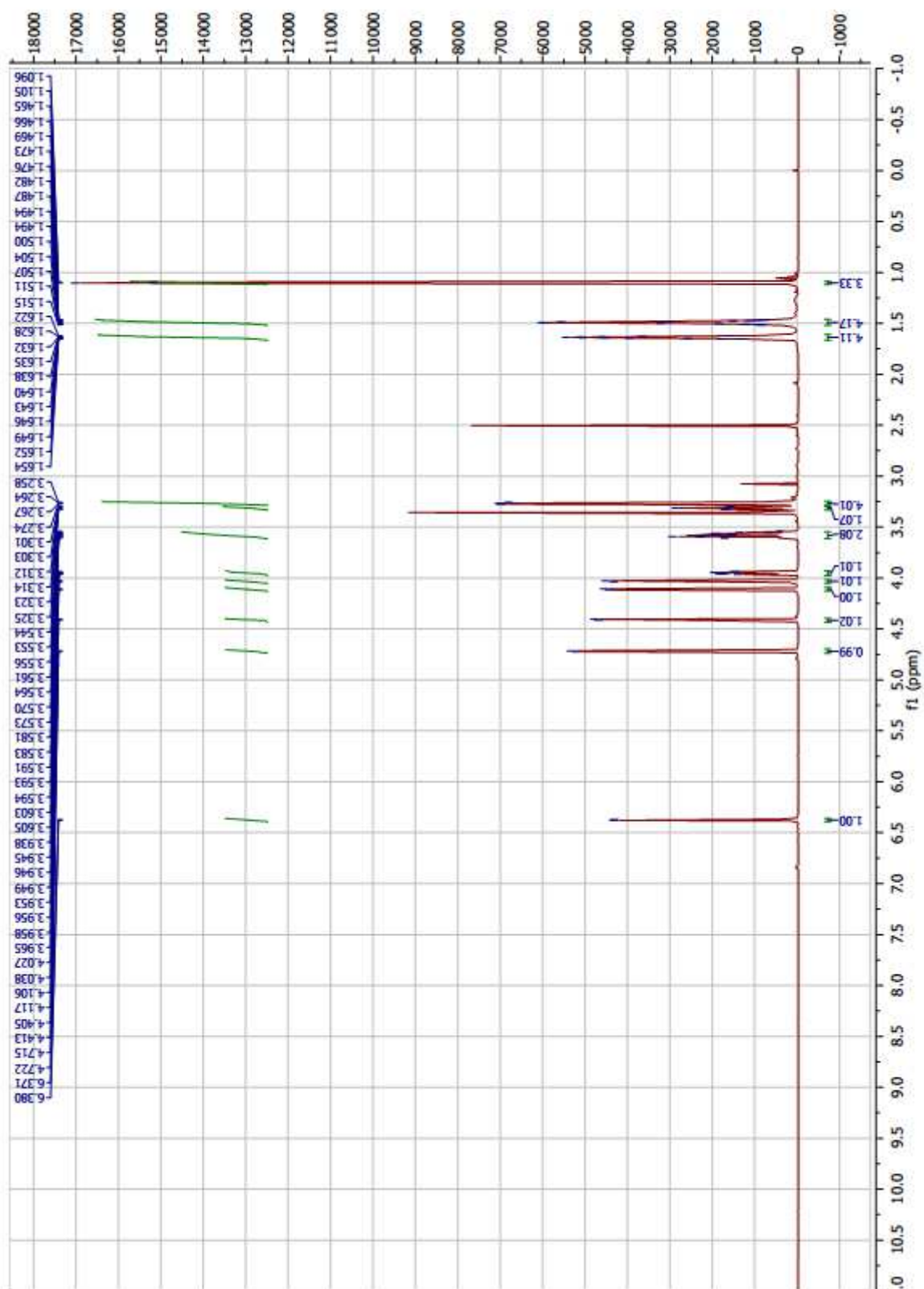
LISA 31

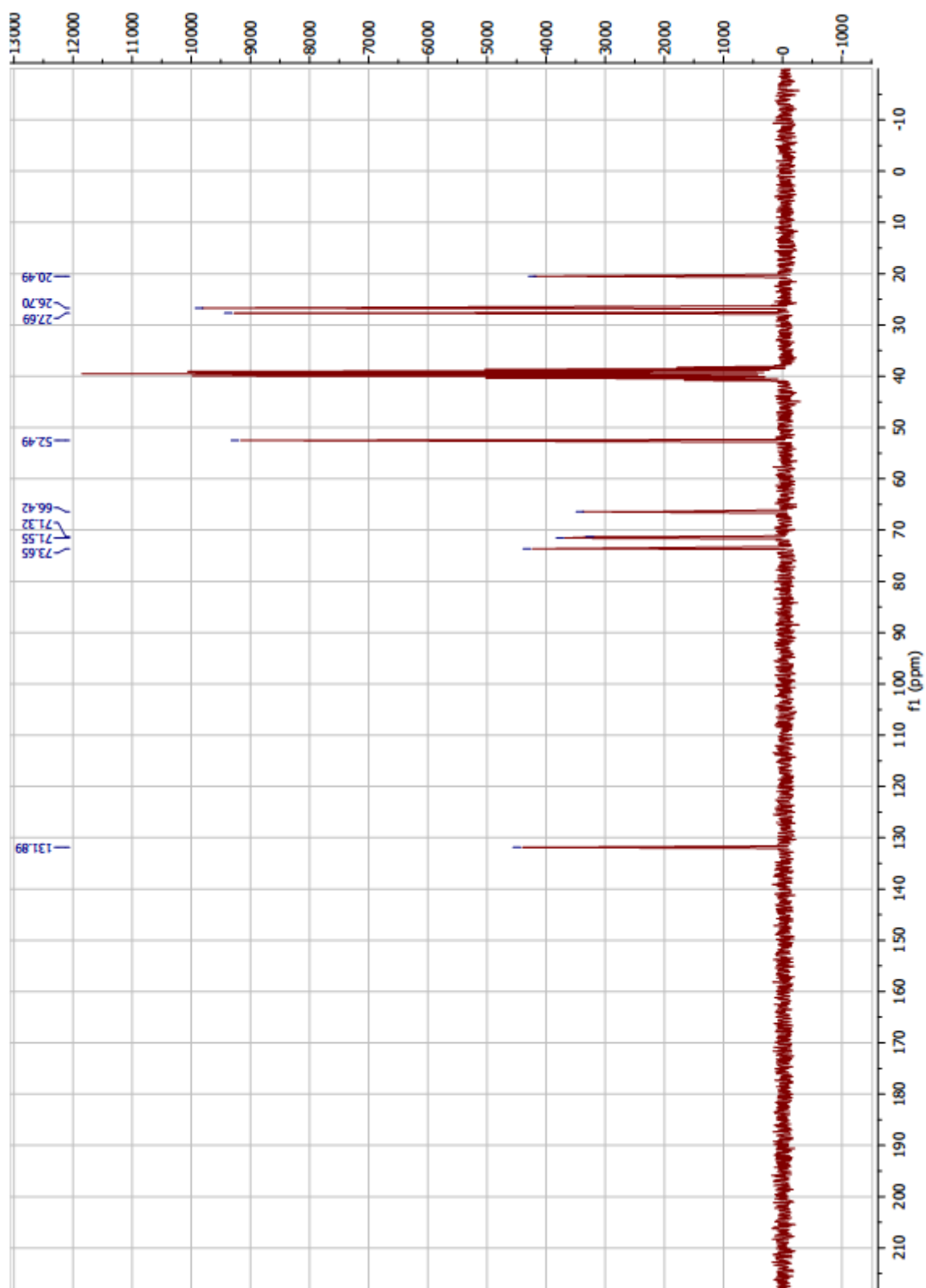




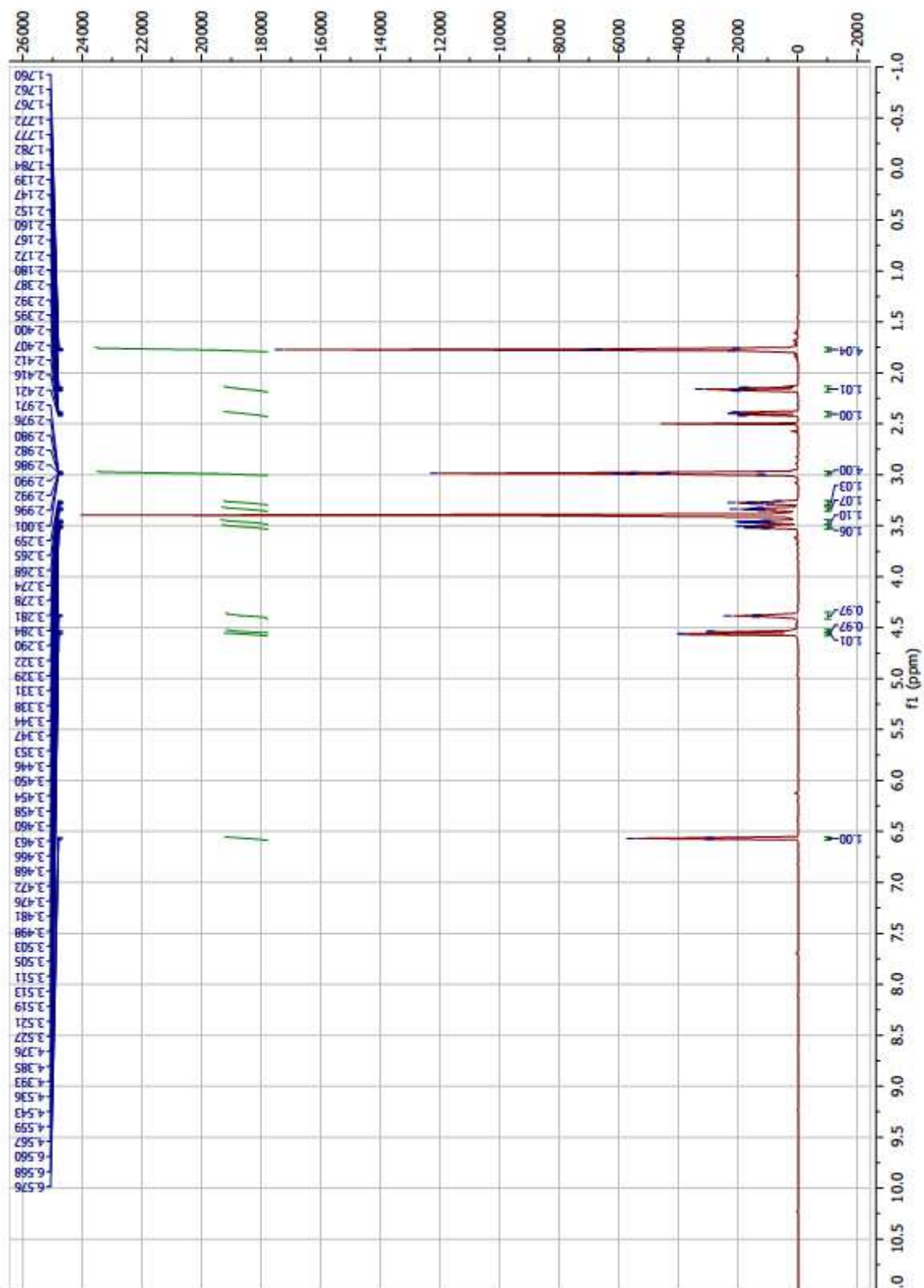


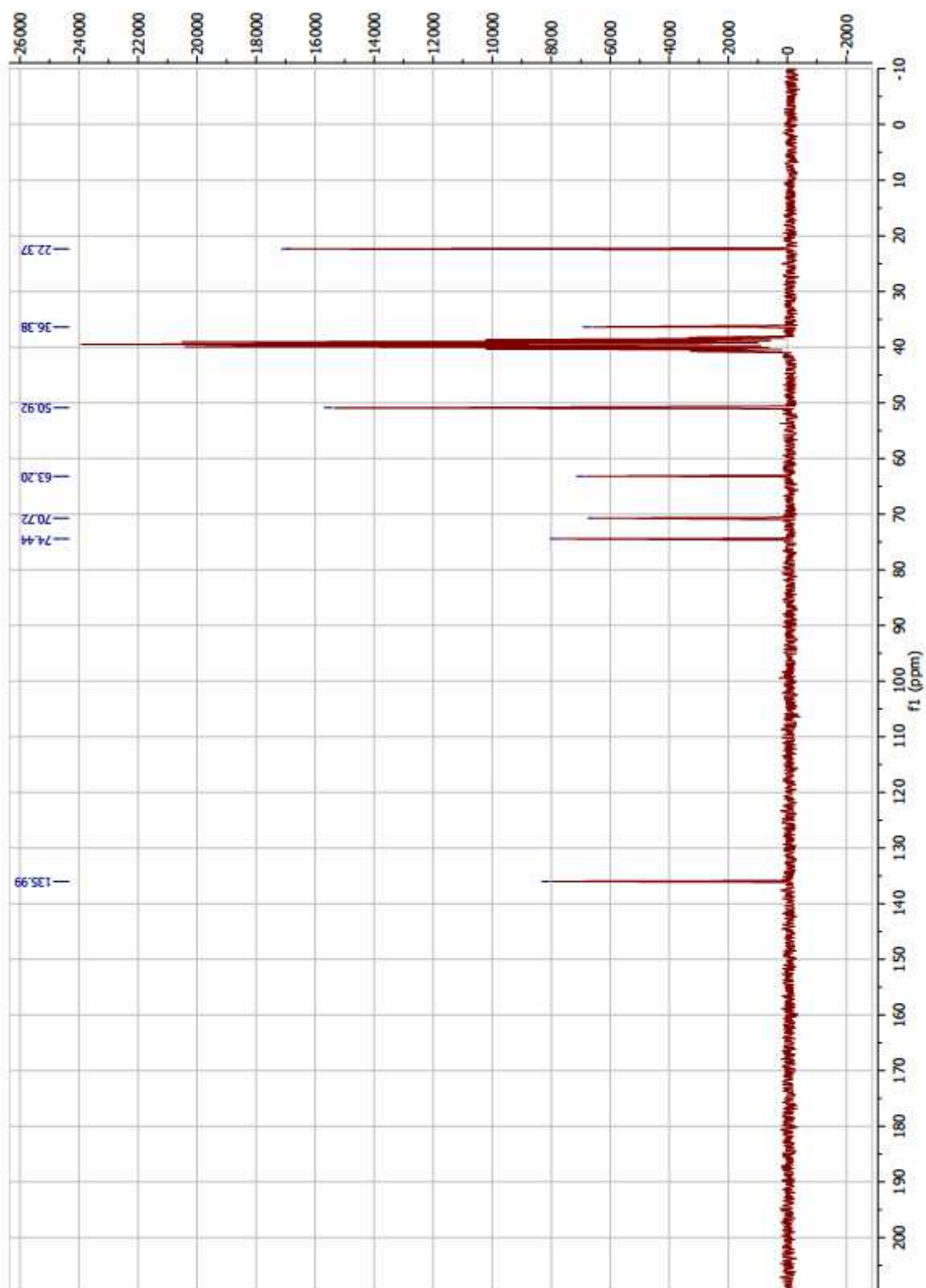




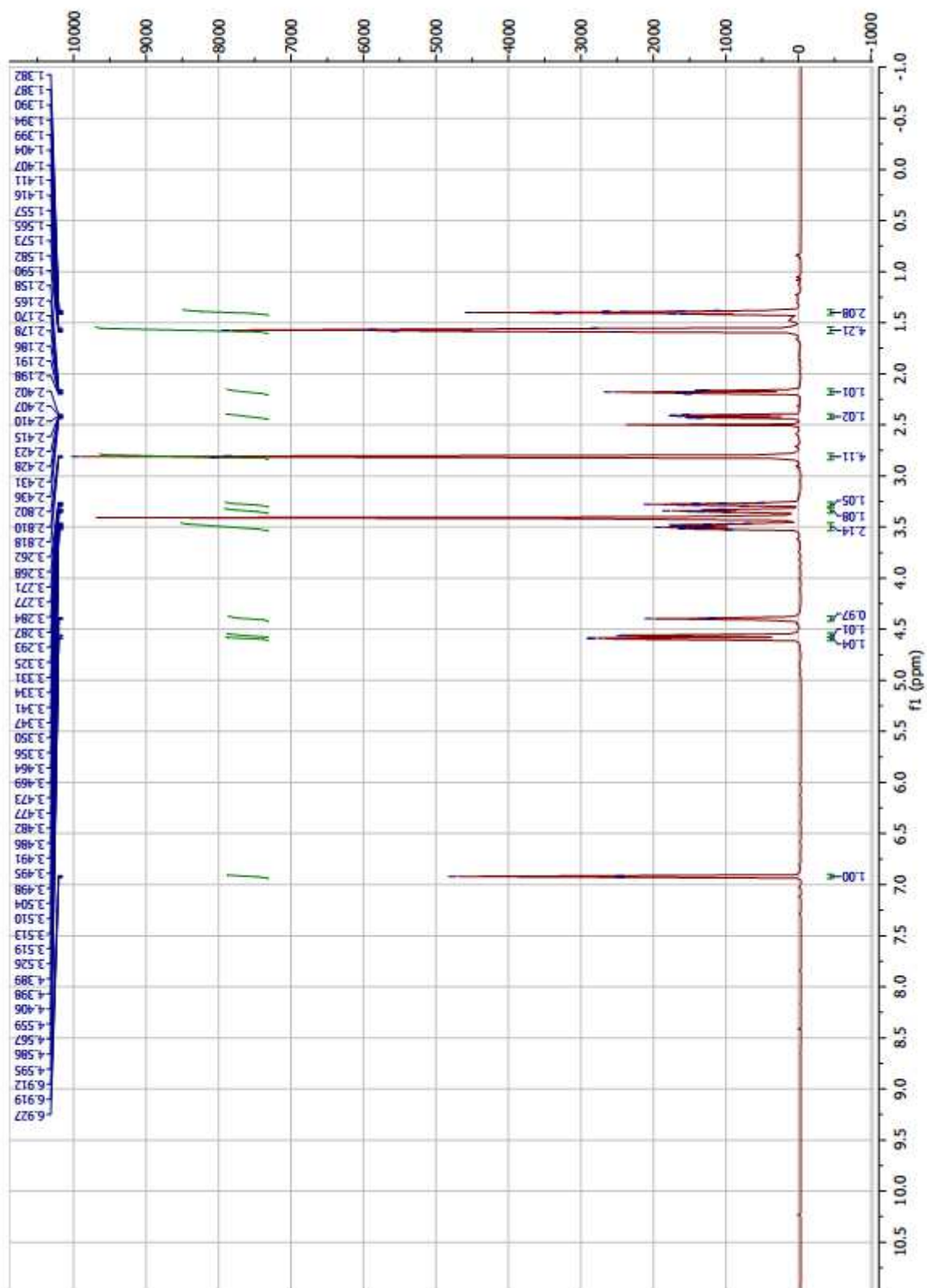


LISA 37

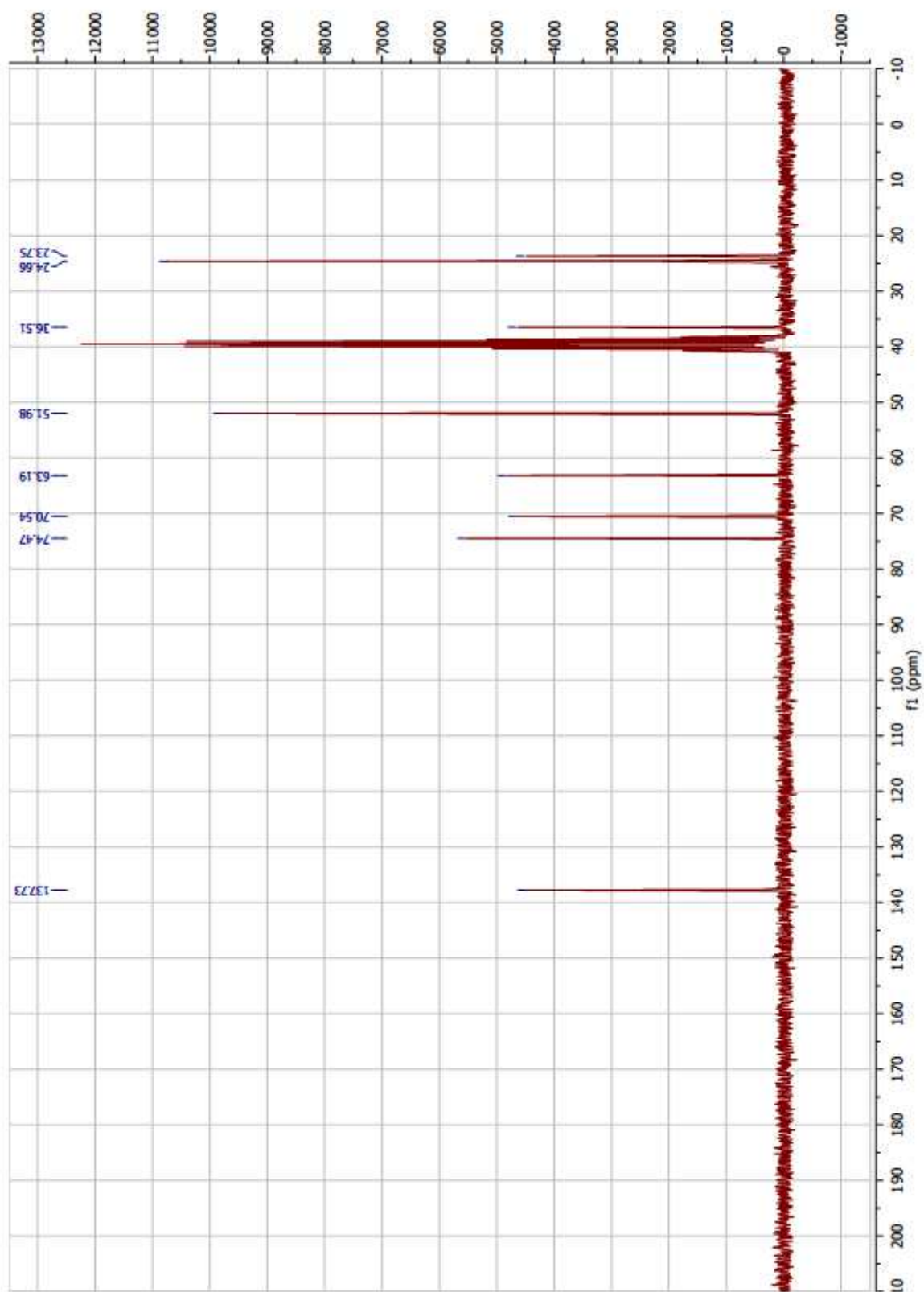




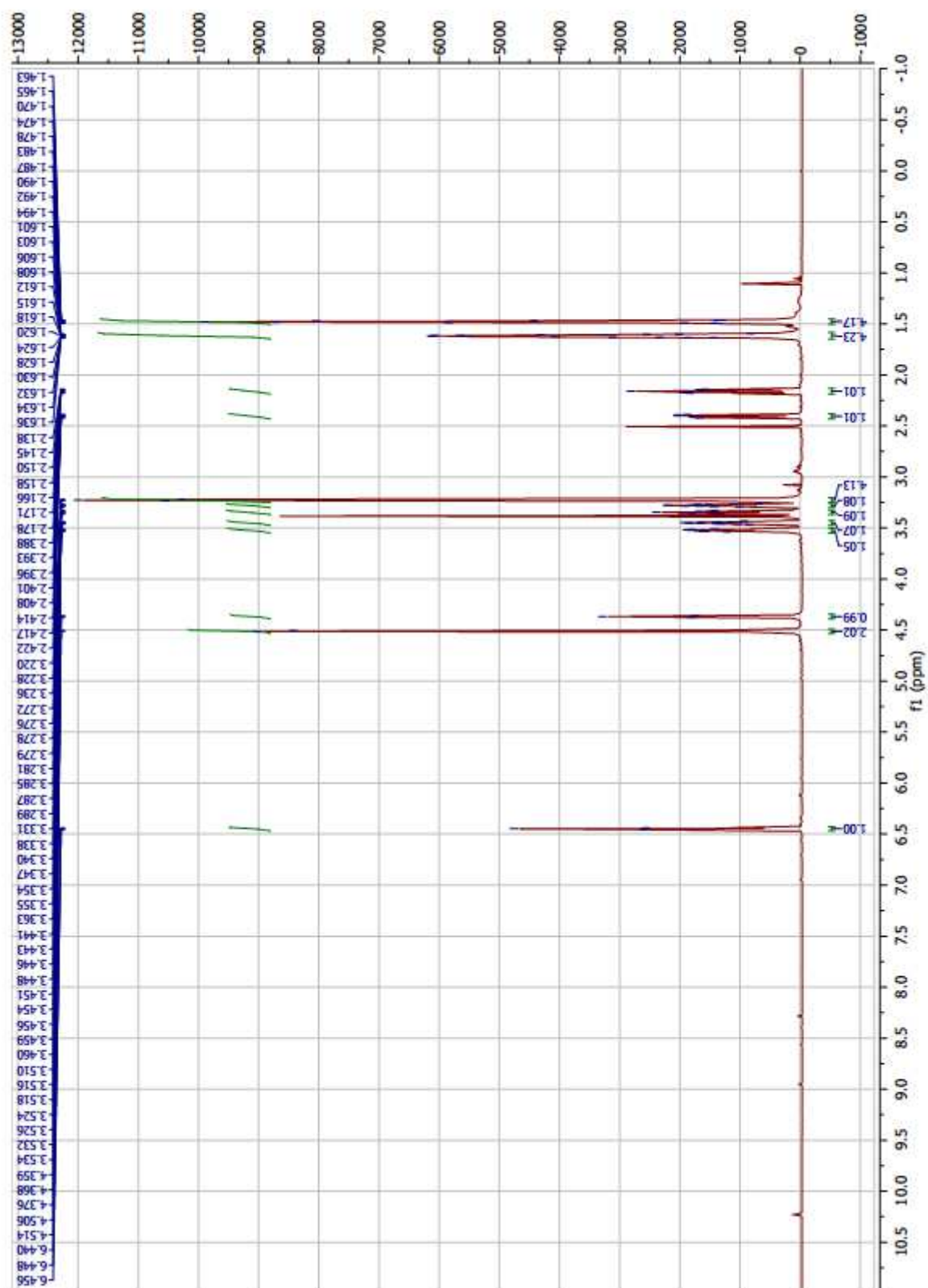
LISA 39

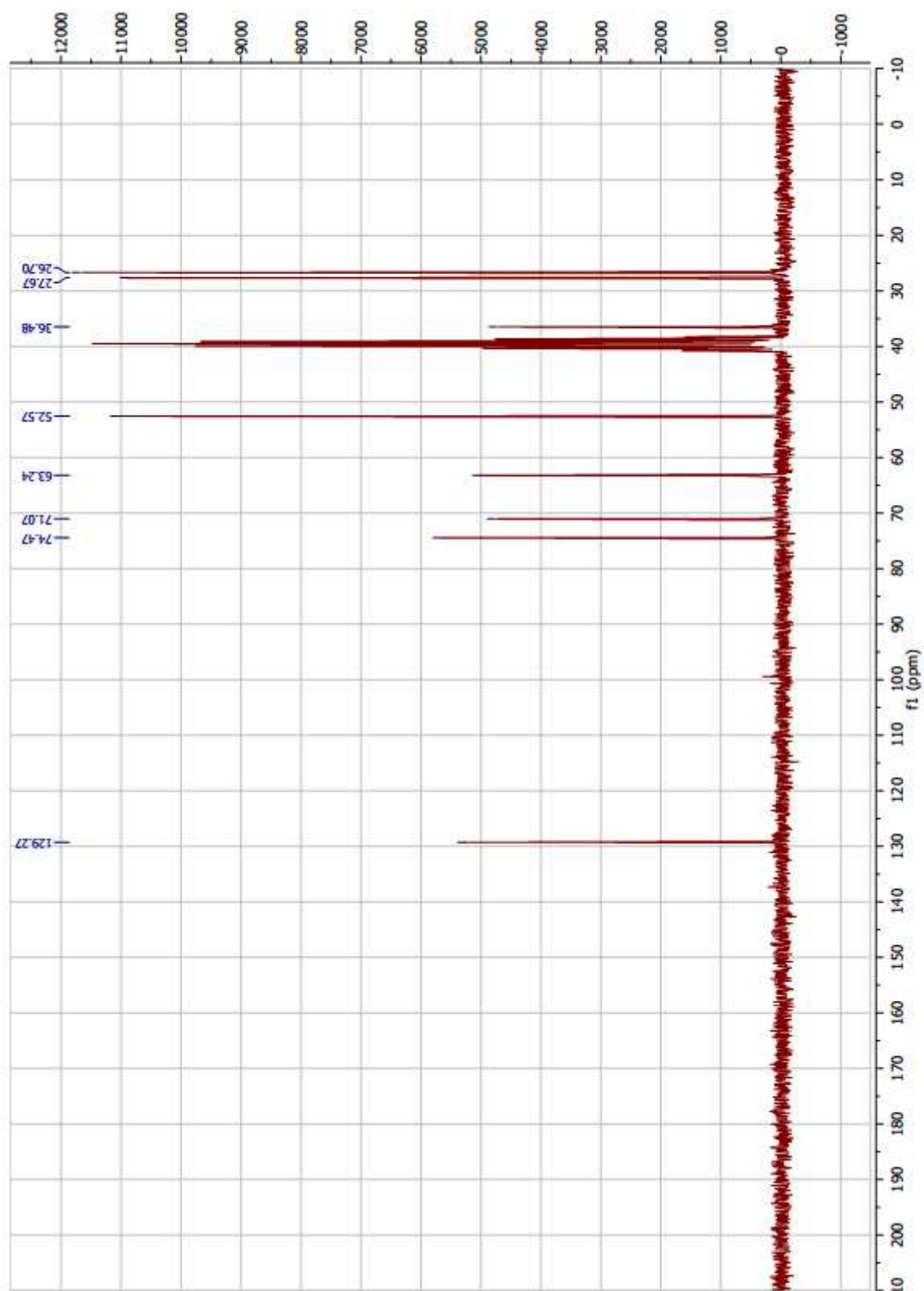


LISA 40



LISA 41





Mina,

Mihkel Ilisson

(autori nimi)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

UUDETE SAHHARIIDI HÜDRASOONIDE SÜNTEES,

(lõputöö pealkiri)

mille juhendaja on

Uno Mäeorg,

(juhendaja nimi)

- 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
- 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **02.06.2018** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **26.05.2014**